1977

Tome 41 1977 Fascicule 1

REVUE DE MYCOLOGIE

Directeur Roger HEIM Membre de l'Institut

LABORATOIRE DE CRYPTOGAMIE
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
12 rue Buffon, 75005 PARIS

Source : MNHN, Paris

SOMMAIRE

PARGUEY-LEDUC A. & JANEX-FAVRE M.C. – L'organisation des asques de deux Truffes : *Tuber rufum* Pico et *Tuber aestivum* Vitt. . . . 1

VIENNOT-BOURGIN G. – Études sur la spermoflore fongique 33

FAYRET J. – Influence des facteurs trophiques sur la croissance et l'obtention de morphogenèses reproductrices in vitro de *Gnomonia leptostyla* (Fr.) Ces. et de Not. 49

KUHNER R. – Vers un système phylogénétique des *Camarophyllus* (Fr.) et *Hygrocybe* (Fr.) (Agaricales - Hygrophoracées) 73

REISINGER O., KIFFER E., MANGENOT F. & OLAH G.M. – Ultrastructure, cytochimie et microdissection de la paroi des hyphes et des propagules exogènes des Ascomycètes et Basidiomycètes. 91

BOIDIN J. & LANQUETIN P. – *Peniophora* (subg. *Duportella*) *malençonii* nov. sp. (Basidiomycètes *Corticiaceae*), espèce méditerranéenne partiellement interstérile avec son vicariant californien. 119

MUELLER E. – Die systematische Stellung des « Schneeschimmels » 129

Les manuscrits doivent être adressés à Madame M. F. ROQUEBERT, Laboratoire de Cryptogamie, 12 rue de Buffon, 75005 Paris.

Source : MNHN, Paris

REVUE
DE
MYCOLOGIE

Directeur : Roger HEIM

TOME QUARANTE ET UN
1977

COMITÉ DE LECTURE

MM. BOIDIN J. (Lyon), CAILLEUX R. (Paris), GAMS W. (Baarn, Hollande), JOLY P. (Paris), MANGENOT F. (Nancy), MOUCHACCA J. (Paris), Mme NICOT J. (Paris), M. PEGLER D. N. (Kew, G. B.), Mme PERREAU J. (Paris), Mme ROQUEBERT M. F. (Paris), M. SUTTON B. C. (Kew, G. B.).

ADMINISTRATION : Mme LOCQUIN-LINARD M. et M. ZAMBETTAKIS Ch.

Copyright © 1976. *Revue de Mycologie*

Source : MNHN, Paris

REVUE DE MYCOLOGIE

CONTENTS

(Tome 41, Fasc. 1, 1977)

PARGUEY-LEDUC A. & JANEX-FAVRE M.C. – Ascus organization in *Tuber rufum* and *T. aestivum*. 1

VIENNOT-BOURGIN G. – Seeds inhabiting fungi. 33

FAYRET J. – Effects of nutrient factors on the growth and reproductive morphogenesis of the fungus *Gnomonia leptostyla* (Fr.) Ces. de Not. . . 49

KUHNER R. – A phyletic system on anatomical and cytological backgrounds : basidiocarp structure and number of spore nuclei. 73

REISINGER O., KIFFER E., MANGENOT F. & OLAH G.M. – Ultrastructural and chemical studies and microdissection of hyphal and exogenous spores walls in Asco and Basidiomycetes. 91

BOIDIN J. & LANQUETIN P. – *Peniophora* (subg. *Duportella*) *malençonii* nov. sp. (Basidiomycetes, *Corticiaceae*), mediterranean species, partly intersterile with its vicarious californian counterparts. 119

MUELLER E. – «Snow moulds» taxinomy. 129

Source : MNHN, Paris

L'ORGANISATION DES ASQUES DE DEUX TRUFFES : Tuber rufum Pico et Tuber aestivum Vitt.

par A. PARGUEY-LEDUC et M.C. JANEX-FAVRE *

RÉSUMÉ. – L'organisation des asques de deux Truffes : *Tuber rufum* Pico et *Tuber aestivum* Vitt. a été étudiée en microscopies optique et électronique. Les asques jeunes présentent une nette polarité et comportent deux zones superposées : une zone basale, où s'accumule du glycogène, et une zone sommitale, à nombreuses petites vacuoles, qui est la zone sporogène. Dans celle-ci, les ascospores se forment, non pas à partir d'une vésicule ascale, comme chez les Eu-Ascomycètes, mais individuellement, comme chez les Hémi-Ascomycètes. En effet, la paroi primordiale de chaque ascospore est constituée par des diverticules issus de lomasomes différenciés sur le trajet du plasmalemme. Primitivement simple, la paroi ascosporale devient rapidement double, puis de plus en plus complexe. L'asque sub-adulte comporte deux zones concentriques : un épiplasme externe, riche en glycogène, et un épiplasme interne, qui contient les ascospores. Ces deux zones sont séparées par un sac post-sporal, qui est simple et n'apparaît qu'après la formation des ascospores.

SUMMARY. – The organization of the asci of two spp. of Truffles: *Tuber rufum* Pico and *Tuber aestivum* Vitt. was studied with light and electron microscopes. Young asci show a clear polarity and comprise two superposed areas : a basal glycogenical area and an apical sporogenous area, with numerous small vacuoles. The ascospores are delimited singly in this sporogenous area, as in the Hemi-Ascomycetes; they do not derive from an ascus vesicle, as in the Eu-Ascomycetes. The primary spore wall of each ascospore indeed arises from plasmalemmasomes; it is first simple but quickly becomes double, then more and more complicated. Two concentric areas are distinct in the sub-adult ascus : an outer glycogenical epiplasm ans an inner epiplasm, including the ascospores. They are separated by a «sac post-sporal», which is simple and appears after the ascospore formation only.

L'asque est l'organe sporogène par lequel se termine la phase asco-sporophytique des Ascomycètes et l'on sait depuis fort longtemps qu'il est le siège d'une caryogamie, puis d'au moins trois mitoses, dont les deux premières sont méiotiques. Il en résulte la formation de huit noyaux haploïdes, qui sont les

* Université P. et M. Curie - UER 59, Laboratoire de Cryptogamie, 9 Quai Saint Bernard, 75005 Paris.

Source : MNHN, Paris

noyaux sporaux. Finalement, autour de ceux-ci, se forment les ascospores, contenant les noyaux sporaux et le sporoplasme; la sporulation est donc endogène. Le reste du cytoplasme ascal (= épiplasme) persiste et entoure les ascospores.

Nous avons étudié l'organisation des asques, en microscopies optique et électronique, chez deux Truffes : *Tuber rufum* Pico et *T. aestivum* Vitt. Les échantillons utilisés ont été récoltés dans un bois de chênes pubescents de la région de Malesherbes (Loiret) (1).

Diverses techniques ont été employées pour cette étude :

1. pour les observations au microscope optique, nous avons utilisé :

a) des préparations par écrasement, colorées par le bleu Coton, le bleu de toluidine, le bleu BZL, le vert Visba ou le Lugol;

b) des coupes en série de matériel fixé par le mélange de WESTBROOK (1935), colorées par l'hématoxyline ferrique et l'éosine;

2. pour les observations au microscope électronique, les échantillons ont été fixés par le glutaraldéhyde à 6,25%, puis post-fixés dans du tétroxyde d'osmium à 1% et inclus dans la résine de SPURR. Les coupes ultra-fines ont été contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb; quelques unes ont été traitées par la technique de THIERY (1967) pour la mise en évidence des polysaccharides (2).

Nos observations sur l'organisation des asques des deux Truffes : *Tuber rufum* et *T. aestivum* seront exposées selon le plan suivant :

I. L'évolution des asques avant l'ascosporogénèse;
II. Le stade de l'ascosporogénèse;
III. L'organisation de l'asque adulte.

Il nous est particulièrement agréable de présenter les premiers résultats de nos observations en microscopie électronique dans le volume jubilaire dédié à notre Maître le Professeur M. CHADEFAUD. Après avoir fait lui-même des observations préliminaires (inédites) chez le *T. rufum*, il nous a vivement incitées à entreprendre l'étude précise des asques des Truffes et a ensuite toujours suivi ce travail avec une grande et bienveillante attention.

I. L'ÉVOLUTION DES ASQUES AVANT L'ASCOSPOROGENESE

A. FORMATION DES ASQUES

Les asques du *Tuber rufum* et du *T. aestivum* se forment de façon classique, chacun à partir de la cellule pro-ascale d'une dangeardie ascogène à bec (b)

(1) Nous remercions vivement Messieurs F. MAGNE et G. MALENÇON qui nous ont très aimablement procuré et identifié les échantillons.

(2) Nous avons plaisir à remercier M. AVNAIM, C. BIDOUX et N. JAMPSIN pour leur précieuse collaboration technique.

Source : MNHN, Paris

uninucléé (fig. 1). Ce bec se soude secondairement à la cellule podale (p) uninucléée et devient ainsi une anse latérale (fig. 2). Comme l'avait déjà observé GREIS (1938, 1939) chez le *T. aestivum* et le *T. brumale*, les dangeardies ascogènes peuvent occuper l'extrémité de filaments dicaryotiques dangeardiens. Elles nous ont en effet toujours paru terminales, contrairement aux observations de SCHUSSNIG (1921) sur le *T. aestivum*. Chaque cellule pro-ascale (pas) contient deux noyaux (n) formant un dicaryon (fig. 1), et elle engendre un seul asque.

En microscopie électronique, la cellule pro-ascale (Pl. I) apparaît entourée d'une paroi formée de deux couches d'épaisseur sensiblement égale : une couche externe (= exoascus, ex), moyennement dense aux électrons, et une couche interne (= endoascus, en), nettement plus claire. Chacun des deux noyaux (n), qui présentent fréquemment un bec (Pl. II, fig. 1), est limité par une membrane nucléaire à deux feuillets, interrompue par des pores. Le nucléoplasme contient un nucléole et des masses chromosomiques denses aux électrons.

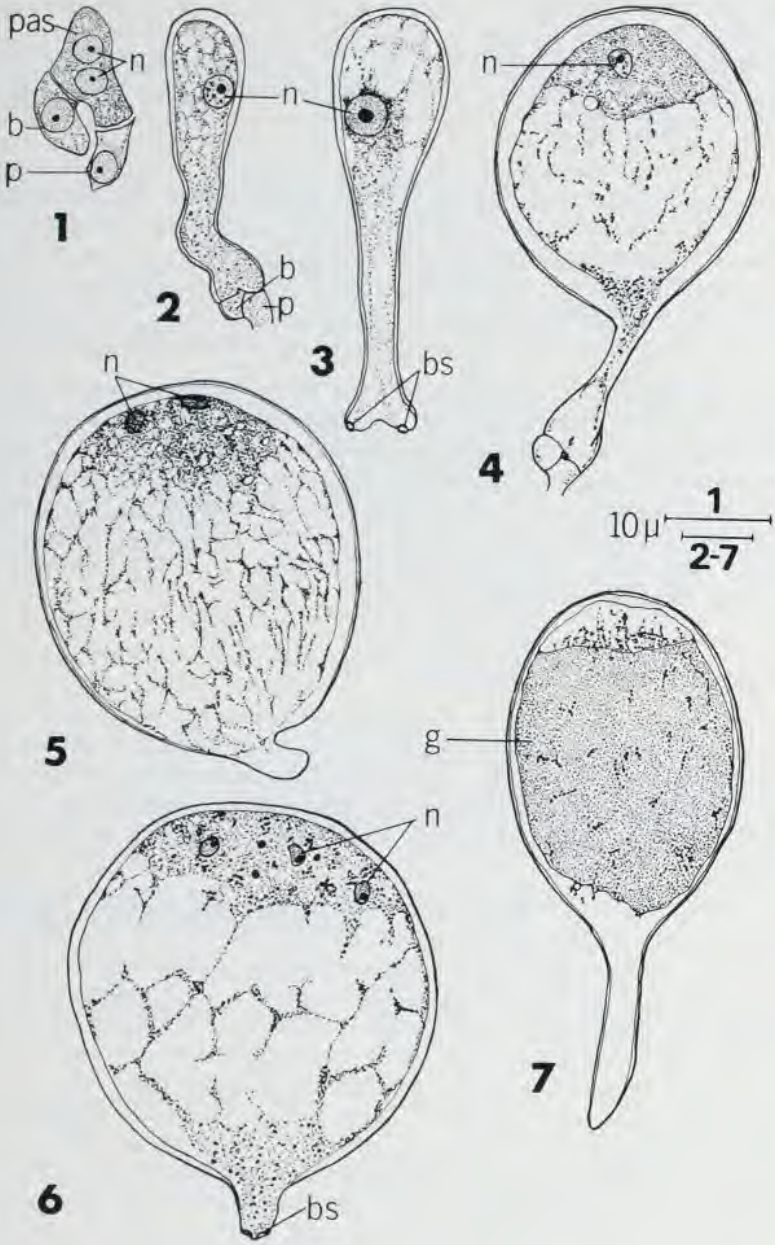
Le cytoplasme de la cellule pro-ascale présente une nette polarité dans la répartition de ses inclusions (Pl. I). La partie sommitale est essentiellement occupée par de nombreuses et volumineuses mitochondries (m) à longues crêtes parallèles. La partie moyenne contient des éléments du réseau endoplasmique (re). La partie basale renferme surtout des vacuoles (v), petites et plus ou moins confluentes, et des globules lipidiques (l). D'autres vacuoles sont réparties dans tout le volume de la cellule pro-ascale. A ce stade sont également visibles de volumineux lomasomes (lo).

B. L'ASQUE A NOYAU DIPLOIDE

1. Peu après la caryogamie le jeune asque se renfle dans sa partie sommitale, qui contient, en son centre, le noyau diploïde (n, fig. 2 puis 3). La base bifide de l'asque, attestant son origine dangeardienne, est très nette; des bouchons synaptiques (bs) y sont bien visibles après coloration au bleu Coton (fig. 3).

Au microscope électronique, la paroi des jeunes asques apparaît plus épaisse qu'au stade précédent, mais toujours constituée de deux couches distinctes (Pl. II, fig. 2). Des modifications plus importantes concernent les inclusions cytoplasmiques. On observe en particulier l'apparition de glycogène : sous forme de rosettes groupées en amas irréguliers, celui-ci semble d'abord localisé à la périphérie du cytoplasme (Pl. II, fig. 2); rapidement il devient très abondant et se répartit dans tout le volume de l'asque, sauf autour d'une zone cytoplasmique péri-nucléaire (Pl. II, fig. 3). Cette zone, à contenu homogène, a un contour très irrégulier et se prolonge dans tout l'asque par de nombreux trabécules, qui contiennent des mitochondries, beaucoup plus petites qu'au stade précédent et à crêtes moins nombreuses, ainsi que des vacuoles, qui sont petites et dont certaines doivent avoir un rôle digestif, et de rares globules lipidiques. Les rosettes de glycogène ont souvent une disposition rayonnante autour de ces trabécules (Pl. II, fig. 3). Au voisinage du noyau, on observe fréquemment

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

des empilements d'éléments du réseau endoplasmique (Pl. III, fig. 1), qui simulent un peu des dictyosomes, mais sans en avoir la valeur.

2. Ensuite, le renflement sommital de l'asque s'accroît considérablement; la base reste au contraire étroite et forme un pédicelle; ce dernier s'allonge beaucoup plus chez le *T. rufum* que chez le *T. aestivum*.

Une nouvelle polarité, très marquée, apparaît dans la répartition des constituants de l'asque; elle est consécutive à la migration du noyau diploïde dans sa partie sommitale.

Cette polarité s'observe nettement au microscope optique (fig. 4 à 7). Lorsqu'on utilise des colorants à base de bleu, la partie supérieure de l'asque, en forme de calotte et occupant environ 1/6 de son volume, est toujours très colorable; elle contraste avec la partie inférieure, qui au contraire apparaît claire et seulement parcourue de travées granuleuses. Ces dernières, convergeant vers la base, s'y réunissent généralement en une plage (fig. 4 et 6).

Cette même disposition en deux zones superposées s'observe après coloration par le Lugol, mais inversement c'est alors la partie inférieure qui est la plus fortement colorée (fig. 7) : elle apparaît brun-orangé, ce qui indique une forte densité de glycogène (g). La partie sommitale de l'asque ne se colore que très faiblement en jaune.

Les figures 4, 5 et 6 montrent que c'est dans la zone sommitale de l'asque que se localise le noyau diploïde (n) et qu'il y subit une série de divisions aboutissant à la formation de noyaux haploïdes, dont certains deviendront des noyaux sporaux.

Les diverses colorations utilisées indiquent enfin que le pédicelle de l'asque est anucléé et très pauvre en inclusions cytoplasmiques; celles-ci peuvent même disparaître totalement (fig. 7).

Les observations au microscope électronique confirment les résultats obtenus en microscopie optique. En effet, sur les coupes ultra-fines la partie inférieure de l'asque apparaît bourrée de glycogène (g) en rosettes (Pl. III, fig. 2), alors que

Fig. 1 à 7. — **Formation et évolution de l'asque avant l'ascosporogénèse** *(Tuber rufum* : fig. 2, 3, 4 et 7; *T. aestivum* : fig. 1, 5 et 6).

1 : crochet dangeardien à bec. 2 : cellule pro-ascale transformée en un asque uninucléé encore cylindrique, avec restes de la dangeardie génératrice à la base. 3 : jeune asque uninucléé légèrement claviforme, avec bouchons synaptiques à la base. 4 : asque à tête fertile globuleuse et pédicelle, présentant une nette polarité : partie supérieure sombre contenant le noyau diploïde et partie inférieure claire. 5 : asque renfermant deux noyaux dans sa partie supérieure. 6 : asque renfermant les noyaux sporaux dans sa partie supérieure. 7 : mise en évidence du glycogène dans la partie inférieure de la tête fertile d'un asque.

Coloration : bleu de toluidine : fig. 1; bleu Coton : fig. 3 et 6; vert Visba : fig. 5; Lugol : fig. 2 et 7; hématoxyline ferrique-éosine : fig. 4.

b : bec, **bs** : bouchon synaptique, **g** : glycogène, **n** : noyau, **p** : cellule podale, **pas** : cellule pro-ascale.

Source : MNHN, Paris

la partie supérieure n'en contient que des plages éparses, qui laissent voir entre elles les autres constituants cytoplasmiques, en particulier de très nombreuses petites vacuoles (v) réparties uniformément, et quelques globules lipidiques. La limite entre ces deux parties est très nettement marquée, mais aucune membrane ne les sépare l'une de l'autre. Le noyau (n), encore unique, est situé au centre de la partie sommitale; la zone périnucléaire, qui l'entoure, est inchangée.

Dans la paroi de l'asque, l'exoascus (ex) seul s'est épaissi; l'endoascus (en) apparaît sous la forme d'un mince liseré clair (Pl. III, fig. 2), qui tend à disparaître.

II. LE STADE DE L'ASCOSPOROGENESE

1. Nos observations en microscopie optique ne nous ont pas permis de comprendre le mode de formation des ascospores. Elles nous ont seulement montré que c'est dans la partie sommitale de l'asque, où s'est divisé le noyau diploïde, que se différencient les ascospores (asp, fig. 8). Celles-ci migrent ensuite dans la partie centrale de l'asque (fig. 9), avec le reste du cytoplasme de la zone sporogène (= **épi**plasme).

2. Par contre nos observations au microscope électronique nous ont montré que, chez les deux Truffes étudiées, l'ascosporogénèse se réalise selon un mécanisme tout à fait original (JANEX-FAVRE & PARGUEY-LEDUC, 1976).

Celui-ci se déroule dans la partie sommitale de l'asque. Après la formation des noyaux sporaux, on observe dans cette région la présence de nombreux lomasomes sur le trajet du plasmalemme (Pl. IV, fig. 1). En même temps, dans quelques unes des vacuoles se forment des granules métachromatiques, très denses aux électrons. Chaque vacuole en contient un volumineux. Ce processus s'étend progressivement à toutes les vacuoles.

Les noyaux sporaux se disposent alors à la périphérie du cytoplasme. La zone péri-nucléaire demeure distincte autour de chacun d'eux; elle contient des éléments du réseau endoplasmique et quelques mitochondries, rares et petites (Pl. IV, fig. 2).

A proximité de chaque noyau sporal un lomasome (ou quelquefois plusieurs) émet une formation qui, en coupe, apparaît comme un diverticule simple dirigé vers l'intérieur du cytoplasme et faisant avec le plasmalemme un angle de 45 à 90° (Pl. IV, fig. 3 et pl. V, fig. 1). D'abord rectiligne, ce diverticule, en s'allongeant, se plisse peu à peu en zig-zag, probablement par suite de la résistance opposée à sa progression par les éléments très denses du cytoplasme (Pl. V, fig. 1). Lorsqu'il est parvenu au-delà du noyau, il s'incurve et le contourne, en englobant la zone péri-nucléaire et la portion voisine du cytoplasme (Pl. V, fig. 2).

Ensuite, poursuivant sa progression, le diverticule se rapproche du plasmalemme, mais sans s'y rattacher (Pl. VI, fig. 1); par contre il peut rejoindre le

Source : MNHN, Paris

lomasome générateur (Pl. VIII, fig. 1). Dans tous les cas il se referme sur lui-même : il en résulte la formation d'un sac, que nous appellerons « sac pro-sporal » car il constitue la paroi primordiale de l'ascospore, enveloppant le noyau sporal et le sporoplasme (Pl. VI, fig. 2 et pl. VII, fig. 1).

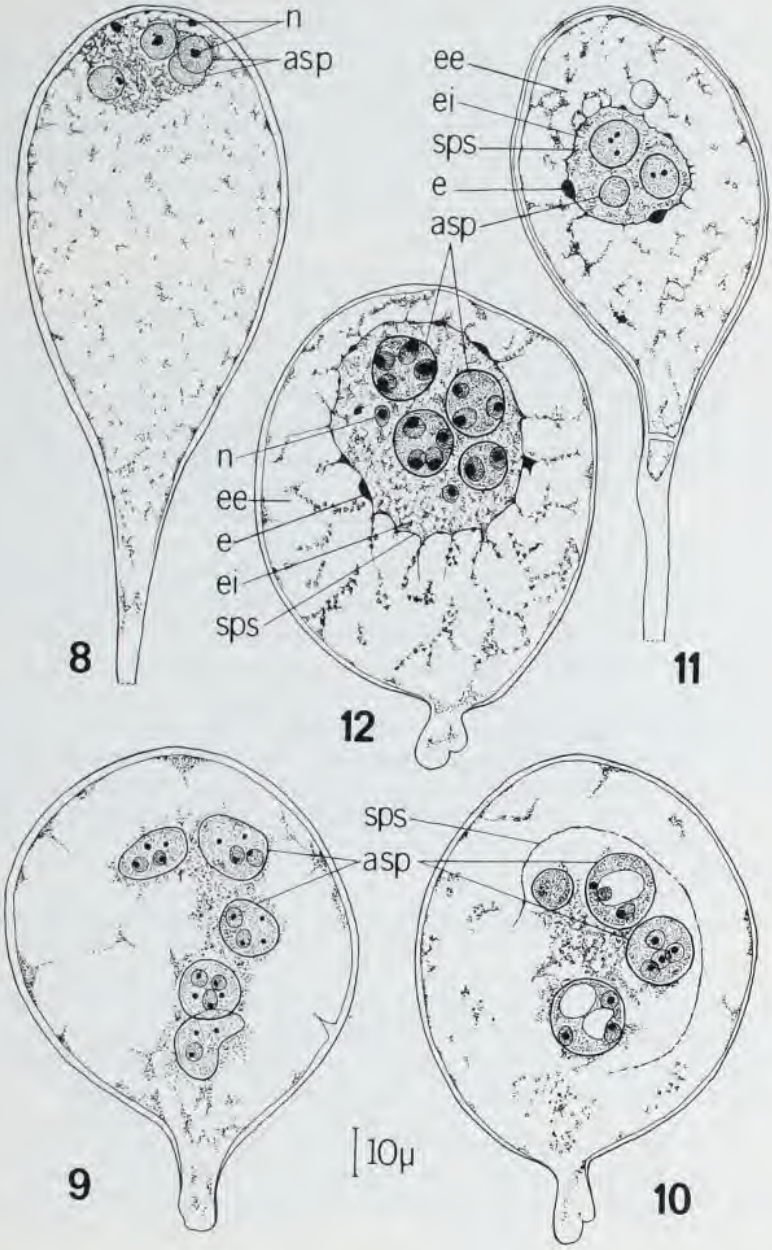
Comme le diverticule lomasomien dont elle dérive, la paroi primordiale de chaque ascospore est d'abord simple (Pl. VI, fig. 2 et pl. VII, fig. 1), mais elle se dédouble ensuite très rapidement. De petites boutonnières, produites par un dédoublement très localisé, apparaissent de place en place sur la paroi primordiale (Pl. VI, fig. 2); elle se multiplient, s'élargissent et deviennent contiguës (Pl. VII, fig. 2) puis fusionnent entre elles; la paroi ascosporale comporte alors deux feuillets distincts (Pl. VIII, fig. 1).

3. Ainsi que nous l'avions fait remarquer dans notre précédente Note (JANEX-FAVRE & PARGUEY-LEDUC, 1976), la formation des ascospores chez les deux Truffes : *T. rufum* et *T. aestivum* se déroule suivant un mécanisme qui n'a pas encore été décrit jusqu'ici. En effet, elle ne met en jeu ni le mécanisme harpérien (HARPER, 1897), ni l'intervention d'une vésicule analogue à celle décrite en microscopie optique par ANDRUS & HARTER (1933, 1937) puis par CHADEFAUD (1943, 1960) et, depuis, fréquemment observée en microscopie électronique chez les Eu-Ascomycètes (CARROLL 1966, 1967 et 1969; REEVES 1966 et 1967; SCHRANTZ 1966, 1967 et 1970; BRACKER 1967 et 1969; MAINWARING 1967; GRIFFITHS 1968; OSO 1969; BECKETT & CRAWFORD 1970; FURTADO & OLIVE 1970; GREENHALGH & GRIFFITHS 1970; ZICKLER 1970; WELLS 1972; CAMPBELL 1973; GIL 1973; CODRON 1974; STIERS 1974; HILL 1975). Il est généralement admis que cette « vésicule ascale », qui est toujours formée de deux feuillets, donne, en s'invaginant entre les noyaux sporaux, la paroi primordiale des ascospores; cette dernière est donc, dès son origine, constituée de deux feuillets. Bien au contraire, chez nos deux Truffes aucune vésicule n'englobe l'ensemble des noyaux sporaux avant la délimitation des ascospores; celles-ci se forment individuellement et leur paroi primordiale est primitivement simple, comme le diverticule lomasomien dont elle provient.

Ainsi la paroi des ascospores du *T. rufum* et du *T. aestivum* est en rapport avec le plasmalemme, par l'intermédiaire des lomasomes générateurs. Par contre, l'origine de la paroi des ascospores, chez les autres Eu-Ascomycètes demeure incertaine, puisque celle de la vésicule ascale n'est pas encore connue avec certitude; rappelons qu'à ce sujet plusieurs hypothèses ont été émises, selon lesquelles les membranes constituant la vésicule ascale pourraient dériver de bourgeons nucléaires, ou du réseau endoplasmique, ou du plasmalemme.

Pour CHADEFAUD (1974), la vésicule ascale, formation sporogène délimitée dans le cytoplasme de l'asque, est comparable aux sporoblastes de certains Protozoaires Cnidiés, tels que les *Myxobolus*; ses lobes, qui délimitent les ascospores, sont peut-être homologues aux ramifications sommitales qui, dans les basides forment les basidiospores.

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

4. Bien que la formation des ascospores du *T. rufum* et du *T. aestivum* ne fasse pas intervenir de vésicule ascale, nous avons observé, dans de rares asques, une formation particulière qui peut rappeler cette vésicule. Il s'agit d'une calotte apicale discontinue, formée de deux feuillets et doublant intérieurement le plasmalemme. Les fragments de cette calotte sont produits par des lomasomes; ils ont donc la même origine que les diverticules qui forment les sacs pro-sporaux mais il s'en distinguent nettement par leur disposition et par leur structure. En effet, les fragments de la calotte apicale se développent, dès leur point de départ sur le lomasome, parallèlement au plasmalemme, dont ils épousent toutes les sinuosités, et ils sont constitués de deux feuillets séparés par un espace clair (Pl. VII, fig. 3), tandis que les diverticules lomasomiens qui forment les sacs pro-sporaux s'orientent vers l'intérieur de l'asque et sont simples. Les fragments de la calotte apicale n'interviennent pas dans la délimitation des ascospores; ils semblent simplement produire ensuite des éléments du réseau endoplasmique, qui deviennent très abondants autour des ascospores aux stades ultérieurs et qui ont alors un rôle très remarquable, comme nous le verrons plus loin.

Par son origine, sa structure et sa disposition, la calotte apicale des deux Truffes étudiées semble rappeler de façon assez précise la formation que GIL (1973) figure, à la périphérie de l'asque jeune, chez une Eurotiale : l'*Ajellomyces dermatitidis*; celle-ci, en effet, est issue d'un mésosome, constituée de deux feuillets et disposée parallèlement au plasmalemme. Il s'agit donc peut-être, chez ces trois Ascomycètes, de formations équivalentes, bien que GIL interprète celle de l'*Ajellomyces* comme une vésicule ascale classique, sans toutefois montrer comment elle intervient dans l'ascosporogénèse.

5. Le mode de formation des ascospores chez les deux Truffes : *T. rufum* et *T. aestivum* rappelle celui décrit chez les Hémi-Ascomycètes. On sait en effet que chez les diverses espèces de ce groupe où la formation des ascospores a été observée (plusieurs Levures et le *Taphrina deformans*) celles-ci s'isolent d'emblée séparément, au lieu de dériver d'une vésicule ascale préalablement formée.

Dans tous les cas, cependant, contrairement à nos deux Truffes, la paroi primordiale de chaque ascospore est d'emblée double. Pour certains auteurs elle dérive du réseau endoplasmique de l'asque (CONTI & NAYLOR 1960;

Fig. 8 à 12. – **Différenciation des ascospores, puis du sac post-sporal** (*Tuber rufum* : fig. 8 et 11; *T. aestivum* fig. 9, 10 et 12).

8 : différenciation des ascospores dans le sommet d'un asque : 4 ascospores bien formées, encore uninucléées, et 2 noyaux abortifs sont visibles. 9 : migration des ascospores et de l'épiplasme qui les entoure dans la partie centrale d'un asque. 10 : différenciation du sac post-sporal autour des ascospores. 11 et 12 : sac post-sporal achevé, avec épaississements très chromophiles.

Coloration : bleu Coton.

asp : ascospore, **e** : épaississement du sac post-sporal, **ee** : épiplasme externe, **ei** : épiplasme interne, **n** : noyau, **sps** : sac post-sporal.

Source : MNHN, Paris

BANDONI, BISALPUTRA A.A. & BISALPUTRA T. 1967; LYNN & MAGEE 1970; BLACK & GORMAN 1971; ROONEY & MOENS 1973 b); pour d'autres, elle est formée par des invaginations du plasmalemme ascal (MARQUARDT 1963; BANDONI, BISALPUTRA A.A. & BISALPUTRA T. 1967; PLURAD 1972; SYROP & BECKETT 1972; GIL 1973). Les observations les plus précises font apparaître que la paroi primordiale des ascospores prend naissance au contact de la plaque centrosomienne, sous forme d'un segment membranaire double, qui ensuite s'allonge, entoure progressivement le noyau et se referme au pôle opposé à la plaque (MOENS 1971; MOENS & RAPPORT 1971; ROONEY & MOENS 1973 b). Sa formation débute avant que les divisions du noyau diploïde donnant les noyaux sporaux ne soient achevées (MOENS 1971; MOENS & RAPPORT 1971; GUTH, HASHIMOTO & CONTI 1972; ROONEY & MOENS 1973 a; YOO, CALLEJA & JOHNSON 1973).

On constate donc que les Truffes et les Hémi-Ascomycètes ont en commun un mode de formation individuel des ascospores dans l'asque, mais que cependant les modalités de l'ascosporogénèse ne sont pas identiques puisque, contrairement à celle des Truffes, la paroi primordiale des ascospores des Hémi-Ascomycètes est toujours d'emblée double et que, même lorsqu'elle tire son origine du plasmalemme, il ne se forme pas de lomasome intermédiaire.

III. L'ORGANISATION DE L'ASQUE ADULTE

A. LE STADE SUB-ADULTE : présence d'un sac post-sporal autour des ascospores

1) Observations en microscopie optique

Lorsque les ascospores sont parfaitement délimitées dans la partie sommitale de l'asque, le contenu de cette zone migre vers le centre de celui-ci (fig. 9). D'abord uninucléées, les ascospores deviennent alors plurinucléées : le nombre final de noyaux observé dans chaque spore est le plus souvent de quatre; un nucléole est bien visible dans chacun d'eux. La paroi sporale, en cours de différenciation, apparaît encore mince et homogène (fig. 9).

Une fois les ascospores groupées au centre de l'asque, une membrane se différencie autour d'elles; elle les englobe progressivement toutes ensemble (fig. 10), formant ce que nous appellerons un «sac post-sporal» (sps). Celui-ci partage l'épiplasme en deux zones concentriques : un épiplasme interne (ei), entourant les spores, et un épiplasme externe (ee) (fig. 11).

Le sac post-sporal est bien colorable par le bleu Coton, le vert Visba et l'hématoxyline ferrique. Il présente des épaississements très chromophiles, de taille variable (e), et quelquefois de fines digitations, qui se perdent dans l'épiplasme externe (fig. 12).

Source : MNHN, Paris

L'organisation de l'asque de *T. rufum*, au stade que nous venons de décrire, a déjà été observée par CHADEFAUD (1976) qui, à partir des données obtenues en microscopie optique, et en tenant compte du fait que, parfois, entre le corps globuleux de l'asque et son pédicelle, le plasmalemme se ferme sur lui-même, a tenté de comparer cet asque à l'hétérobaside des Trémelles. Toutefois les précisions apportées par la microscopie électronique sur l'ascosporogénèse, l'absence de vésicule ascale et la présence d'un sac enveloppant les ascospores après leur formation infirment, sur certains points, l'interprétation que cet auteur a donnée, à titre d'hypothèse, de l'asque de *T. rufum*.

2) Observations en microscopie électronique

Le sac post-sporal est bien visible au microscope électronique, sous forme d'une fine membrane simple, très sinueuse. Nous n'avons pu déterminer son origine chez les deux espèces étudiées; de nouvelles recherches sur ce sujet sont en cours, chez d'autres Tubérales.

L'épiplasme externe (ee), qui occupe la plus grande partie de l'asque, renferme le glycogène, très dense, qui était localisé précédemment dans la partie inférieure de l'asque (Pl. VIII, fig. 2 et pl. IX, fig. 3).

L'épiplasme qui entoure les ascospores, devenu l'épiplasme interne (ei) se modifie progressivement. Les vacuoles à granule métachromatique disparaissent peu à peu; il n'en persiste bientôt que quelques îlots (Pl. VIII, fig.2). Par contre les éléments du réseau endoplasmique deviennent très abondants. Ils comportent des tubules sinueux, tantôt étroits, tantôt dilatés et renfermant alors des rosettes de glycogène ou d'autres éléments de l'épiplasme (Pl. IX, fig. 1), et se terminent par des ampoules plus ou moins sphériques, à contenu homogène, moyennement dense aux électrons (Pl. VIII, fig. 2 et pl. IX, fig. 2).

Le glycogène semble subir un début de lyse dans les dilatations des tubules endoplasmiques, puis être rejeté dans l'épiplasme interne; ses «restes», d'abord épars, s'agglutinent peu à peu en masses denses aux électrons, grossièrement sphériques, auxquelles les éléments encore en cours d'incorporation donnent un contour irrégulier (Pl. VIII, fig. 2 et pl. IX, fig. 1 et 3). Plus tard, ces masses se résorbent totalement et l'épiplasme interne renferme alors un dense réseau endoplasmique très apparent (Pl. X).

Tandis que les ascospores (asp) augmentent de volume, tout en acquerrant une paroi complexe pourvue d'une ornementation caractéristique, à la formation de laquelle participe le réseau endoplasmique (1) (Pl. VIII, fig. 2 à pl. XII), le sac post-sporal s'accroît lui aussi corrélativement. Son accroissement met en jeu le réseau endoplasmique, dont les tubules et les ampoules terminales s'appliquent étroitement contre le sac post-sporal (pl. IX, fig. 2), puis s'y incorporent, le contenu des ampoules passant à l'extérieur du sac (pl. IX, fig. 3). Plusieurs ampoules peuvent confluer entre elles; elles donnent alors une masse volumineuse, qui est déjà visible au microscope optique (e) (fig. 12 et pl. IX, fig. 3).

(1) L'évolution de la paroi des ascospores sera décrite dans une Note ultérieure.

Source : MNHN, Paris

L'incorporation d'éléments du réseau endoplasmique au sac post-sporal entraîne une nette diminution de la densité de ce réseau dans l'épiplasme interne (Pl. XII, fig. 1).

B. LE STADE ADULTE :
régression du sac post-sporal et maturation des ascospores

1) Observations en microscopie optique

Sur certaines préparations, le sac post-sporal semble se fragmenter, alors que les ascospores n'ont pas encore atteint leur maturité (fig. 13).

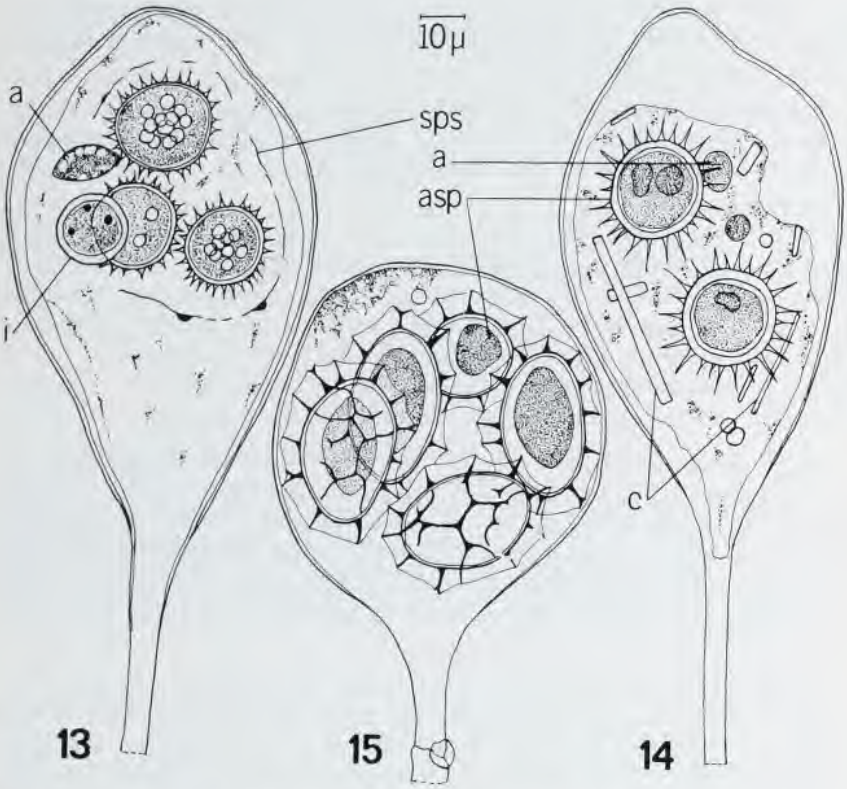


Fig. 13 à 15. — **L'asque adulte** (*Tuber rufum* : fig. 13 et 14; *T. aestivum* : fig. 15).

13 : fragmentation du sac post-sporal. 14 et 15 : asques parfaitement adultes, après disparition du sac et maturation des ascospores.

Coloration : bleu Coton : fig. 13 et 15; Lugol : fig. 14.

a : ascospore abortive, **asp** : ascospore normale, c : cristaux en baguette, i : ascospore infantile, **sps** : sac post-sporal.

Source : MNHN, Paris

Dans l'asque parfaitement adulte, le sac post-sporal a totalement disparu (fig. 14 et 15). Chez le *T. rufum* les asques ont un long pédicelle et une tête ovoïde (fig. 14) tandis que chez le *T. aestivum* leur pédicelle est court et leur tête globuleuse (fig. 15). La taille des ascospores et l'ornementation de leur paroi sont différentes chez les deux espèces (cf. note infrapaginale précédente). Les préparations colorées par le Lugol ou les simples montages dans l'eau font apparaître dans l'asque mûr du *T. rufum* des cristaux en baguette (c), de taille très variable (fig. 14).

2) Observations en microscopie électronique

Les divers types d'ascospores sont repérables au microscope électronique (pl. XI) : ascospores en cours de maturation, ascospores infantiles et abortives; ces dernières sont le plus souvent dépourvues de noyau, leur taille ne dépassant guère celle d'un des noyaux des spores normales.

A mesure que les ascospores grossissent et acquièrent leur maturité, le sac post-sporal (sps) semble être repoussé vers la périphérie de l'asque, contre le plasmalemme (Pl. XII, fig. 2). L'ensemble de l'épiplasme, tant interne qu'externe, se désorganise progressivement.

CONCLUSION

Les caractères très particuliers des ascocarpes des Truffes, dont l'interprétation précise proposée par MALENÇON (1938) est devenue classique, ont justifié depuis longtemps la position marginale de ce groupe dans la systématique des Ascomycètes. Cette position marginale est confirmée par les particularités morphologiques de leurs asques, reconnues par CHADEFAUD (1960, 1973) : partie fertile de l'asque transformée en une tête globuleuse ou ovoïde, paroi mince, appareil apical absent. L'étude de l'organisation des asques des deux Truffes : *T. rufum* et *T. aestivum*, dont nous venons d'exposer les résultats, apporte de nouveaux arguments en faveur de cette thèse.

1. — L'asque présente une nette polarité dans la répartition de ses constituants, qui se modifie au cours de son développement. Au moment de la formation des noyaux sporaux à partir du noyau diploïde, il comporte deux parties superposées : la partie sommitale, qui contient ces noyaux et sera la zone sporogène, et la partie inférieure, purement cytoplasmique, où se développent des réserves (fig. 16). Au stade sub-adulte, l'organisation de l'asque devient concentrique : l'épiplasme externe (ee) entoure l'épiplasme interne (ei), qui est contenu dans le sac post-sporal (sps) et contient les ascospores (asp) (fig. 17).

2. — Dans les jeunes asques, la zone sporogène, constituée par une partie seulement du cytoplasme ascal, est localisée dans le sommet de l'asque (fig. 16). Des faits analogues ont été observés chez une autre Tubérale, du g. *Terfezia*

Source : MNHN, Paris

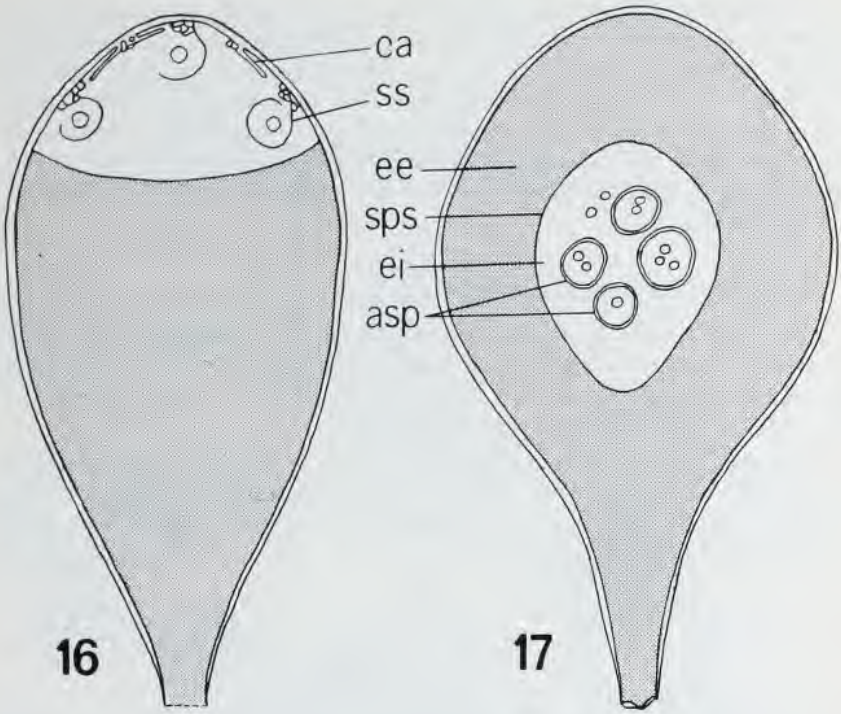


Fig. 16 et 17. – **Schémas montrant deux stades de l'évolution des asques.**

16 : stade de l'ascosporogénèse. Deux zones superposées : zone sommitale sporogène et zone inférieure à glycogène. 17 : stade sub-adulte. Deux zones concentriques, séparées par le sac post-sporal.

asp : ascospore, **ca** : calotte apicale, **ee** : épiplasme externe, **ei** : épiplasme interne, **sps** : sac post-sporal, **ss** : sac pro-sporal.

(CHADEFAUD, inédit).

3. – L'évolution des constituants cytoplasmiques dans l'asque comporte deux phases essentielles :

- avant la sporogénèse, le cytoplasme de la zone sporogène comporte essentiellement des petites vacuoles à granule métachromatique; dans le reste du cytoplasme ascal, les réserves qui se développent sont constituées par du glycogène;

- après la sporogénèse, les vacuoles à granule métachromatique disparaissent et le cytoplasme sporogène est remplacé par l'épiplasme interne, rempli par un abondant réseau endoplasmique; le glycogène persiste dans l'épiplasme externe.

Source : MNHN, Paris

Le développement important du réseau endoplasmique, qui caractérise cette deuxième phase, nous paraît être particulier aux Truffes, dans l'état actuel des connaissances. Par contre, la présence d'une zone sporogène fortement vacuolisée, au cours de la première phase, se retrouve, dans les jeunes asques de divers autres Discomycètes, tel le *Sclerotinia sclerotiorum* (CODRON 1974), et de façon plus nette, chez l'*Ascobolus stercorarius* (WELLS 1972), et chez le *Galactinia plebeia* (SCHRANTZ 1971). Chez ce dernier, comme chez les Truffes, les vacuoles de la zone sporogène, qui sont riches en corpuscules métachromatiques (mais, de plus, accompagnées de lipides), disparaissent après la sporogénèse tandis que du glycogène s'accumule dans l'asque.

4. – La formation des ascospores se déroule selon un mécanisme tout à fait original. En effet, elle ne fait pas intervenir la vésicule ascale, classiquement reconnue chez les Eu-Ascomycètes. Les ascospores se forment individuellement, comme chez les Hémi-Ascomycètes, mais toutefois selon des modalités différentes : chacune d'elles est délimitée, à l'origine, par un sac pro-sporal (ss), dérivé d'un diverticule simple, issu d'un lomasome (fig. 16).

La calotte apicale discontinue (ca) présente dans le sommet de l'asque, et elle aussi dérivée de lomasomes (fig. 16), peut rappeler la vésicule ascale par sa structure à deux feuillets et sa disposition à la périphérie de l'asque, mais elle n'a pas la même fonction, car elle n'intervient pas dans la délimitation des ascospores.

5. – Le rôle joué par les lomasomes dans l'ascosporogénèse est très remarquable. On sait que ces corps, décrits pour la première fois par GIRBRARDT (1961) et dénommés par MOORE et MC ALEAR (1961), sont fréquents chez les Champignons. On leur attribue généralement un rôle dans la synthèse des parois cellulaires, car ils se rencontrent surtout dans des hyphes ou des asques en cours de croissance, mais ils doivent avoir aussi d'autres fonctions. L'intervention de mésosomes, formations analogues aux lomasomes, dans l'ascosporogénèse a été envisagée par GIL (1973) chez une Eurotiale mais, comme nous l'avons montré plus haut, d'une façon qui prête à controverse.

6. – Par suite de son origine, très particulière, la paroi primordiale des ascospores est primitivement simple, et ce n'est que secondairement qu'elle devient double, puis de plus en plus complexe au cours de la maturation des spores. Chez tous les autres Ascomycètes connus (y compris les Hémi-Ascomycètes) cette paroi est d'emblée composée de deux feuillets distincts.

7. – Dans l'asque sub-adulte, les ascospores en voie de maturation sont entourées par un sac post-sporal (sps) dont la présence est constante (fig. 17). Son origine n'a pu être décelée, mais il appartient peut-être au réseau endoplasmique car celui-ci contribue à son accroissement. Ce sac ne peut pas être assimilé à la vésicule ascale parce qu'il est simple (et non double), qu'il n'apparaît qu'après la formation des ascospores et ne participe donc aucunement à celle-ci.

Source : MNHN, Paris

BIBLIOGRAPHIE

ANDRUS C. F. & HARTER L. L., 1933 – Morphology of reproduction in *Ceratostomella fimbriata*. *Journ. Agr. Res.* 46 : 1059-1078.

ANDRUS C. F. & HARTER L. L., 1937 – Organization of the unwalled ascus in two species of *Ceratostomella*. *Journ. Agr. Res.* 54 : 19-46.

BANDONI R. J., BISALPUTRA A. A. & BISALPUTRA T., 1967 – Ascospore development in *Hansenula anomala*. *Can. J. Bot.* 45 : 361-366.

BECKETT A. & CRAWFORD R. M., 1970 – Nuclear behaviour and ascospore delimitation in *Xylosphaera polymorpha*. *J. Gen. Microbiol.* 63 : 269-280.

BLACK S. H. & GORMAN C., 1971 – III - Nuclear segregation and envelopment during ascosporogenesis in *Hansenula wingei*. *Arch. Mikrobiol.* 79 : 231-248.

BRACKER C. E., 1967 – Ultrastructure of Fungi. *Ann. Rev. Phytopathol.* 5 : 343-374.

BRACKER C. E., 1969 – Sporogenesis in Mucorales and Ascomycetes. *XI Intern. Bot. Congress*, Seattle (Abst.), p. 20.

CAMPBELL R., 1973 – Ultrastructure of asci, ascospores and spore release in *Lophodermella sulcigena* (Rostr.) v. Höhn. *Protoplasma* 78 : 69-80.

CARROLL G.C., 1966 – A study of the fine structure of ascosporogenesis. Ph. D. Thesis, 149 p., Austin (Texas).

CARROLL G.C., 1967 – The ultrastructure of ascospore delimitation in *Saccobolus kerverni*. *J. Cell Biol.* 33 : 218-224.

CARROLL G.C., 1969 – A study of the fine structure of ascosporogenesis in *Saccobolus kerverni*. *Arch. Mikrobiol.* 66 : 321-339.

CHADEFAUD M., 1943 – La formation des ascospores chez la Pézize inoperculée *Mniaecia jungermanniae* Boudier. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 90 : 207-209.

CHADEFAUD M., 1960 – Les végétaux non vasculaires (Cryptogamie), 1018 p., Masson Paris.

CHADEFAUD M., 1973 – Les asques et la systématique des Ascomycètes. *Bull. Soc. Myc. Fr.* 89 : 127-170.

CHADEFAUD M., 1974 – Du sommet de l'asque à ceux de la baside; une nouvelle interprétation morphologique des basidiospores. Trav. Mycol. dédiés à R. KUHNER, in *Bull. Soc. Linn. Lyon*, n° spécial, 15.2.74: 98-107.

CHADEFAUD M., 1976 – Hétérobasides, basides urniformes et homobasides; archéobasides et asques. *Bull. Soc. Myc. Fr.* 92: 135-146.

CODRON D., 1974 – Étude ultrastructurale de quelques points du développement des asques du *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *Ann. Sc. Nat., Bot. et Biol. végét.*, 15 : 255-276.

CONTI S. F. & NAYLOR H. B., 1960 – Electron microscopy of ultrathin sections of *Schizosaccharomyces octosporus*. III. Ascosporogenesis, ascospore structure and germination. *J. Bacteriol.* 79 : 417-425.

FURTADO J. S. & OLIVE L. S., 1970 – Ascospore discharge and ultrastructure of the ascus in *Leptosphaerulina australis*. *Nova Hedw.* 19 : 799-810.

GIL F., 1973 – Mesosomes : their role in the delimitation of the ascospore. *Mycopathol. et Mycol. appl.* 49 : 243-247.

GIRBRARDT M., 1961 – Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an *Polystictus versicolor*. 2. Die Feinstruktur von Grundplasma und Mitochondrien. *Arch. Mikrobiol.* 39 : 351-359.

GREENHALGH G. N. & GRIFFITHS H. B., 1970 – The ascus vesicle. *Trans. Br. mycol. Soc.* 54 : 489-492.

Source : MNHN, Paris

GREIS H., 1938 — Die Sexualvorgänge bei *Tuber aestivum* und *T. brumale*. *Biol. Centralbl.* 58 : 617-631.

GREIS H., 1939 — Ascusentwicklung von *Tuber aestivum* und *T. brumale*. *Zeitschr. f. Bot.* 34 : 129-178.

GRIFFITHS H.B., 1968 — The structure of the Pyrenomycete ascus. Thesis, Liverpool.

GUTH E., HASHIMOTO T. & CONTI S. F., 1972 — Morphogenesis of ascospores in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol.* 109 : 869-880.

HARPER R.A., 1897 — Kernteilung und freie Zellbildung in Ascus. *Jahrb. wiss. Bot.* 30 : 249-284.

HILL T.W., 1975 — Ultrastructure of ascosporogenesis in *Nannizzia gypsea*. *J. Bacteriol.* 122 : 743-748.

JANEX-FAVRE M.C. & PARGUEY-LEDUC A., 1976 — La formation des ascospores chez deux Truffes : *Tuber rufum* Pico et *Tuber aestivum* Vitt. (Tubéracées). *C. R. Acad. Sc.*, Paris 283 : 1173-1175.

LYNN R.R. & MAGEE P.T., 1970 — Development of the spore wall during ascospore formation in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Biol.* 44 : 688-692.

MAINWARING H.R., 1967 — The role of endoplasmic reticulum in Ascomycete spore delimitation. *J. Cell Biol.* 35 : 86-87 A.

MALENÇON G., 1938 — Les Truffes européennes. Historique. Morphogénie. Organographie. Classification. Culture. *Rev. de Myc.* 3, mém. h. sér. n° 1 : 1-92.

MARQUARDT H., 1963 — Elektronenoptische Untersuchungen über die Ascosporenbildung bei *Saccharomyces cerevisiae* unter cytologischen Aspekt. *Arch. Mikrobiol.* 46 : 308-320.

MOENS P.B., 1971 — Fine structure of ascospore development in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Can. J. Microbiol.* 17 : 507-509.

MOENS P.B. & RAPPORT E., 1971 — Spindles, spindle plaques and meiosis in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Biol.* 50 : 344-361.

MOORE R.T. & MC ALEAR J.H., 1961 — Fine structure of Mycota. 5. Lomasomes, previously uncharacterized hyphal structures. *Mycologia* 53 : 194-200.

OSO B.A., 1969 — Electron microscopy of ascus development in *Ascobolus*. *Ann. Bot.* 33 : 205-209.

PLURAD S.B., 1972 — Fine structure of ascosporogenesis in *Nematospora coryli* Peglion. *J. Bacteriol.* 109 : 927-929.

REEVES F. Jr., 1966 — An ultrastructural study of ascosporogenesis in *Pyronema domesticum*. Thesis, Urbana (Illinois).

REEVES F. Jr., 1967 — The fine structure of ascospore formation in *Pyronema domesticum*. *Mycologia* 59 : 1018-1033.

ROONEY L. & MOENS P.B., 1973 a — Nuclear divisions at meiosis in the ascomycetous yeast *Wickerhamia fluorescens*. *Can. J. Microbiol.* 19 : 1383-1385.

ROONEY L. & MOENS P.B., 1973 b — The fine structure of ascospore delimitation in the yeast *Wickerhamia fluorescens*. *Can. J. Microbiol.* 19 : 1389-1392.

SCHRANTZ J.P., 1966 — Contribution à l'étude de la paroi sporale chez *Pustularia cupularis* (L.) Fuck. *C. R. Acad. Sc.*, Paris, 262 : 1212-1215.

SCHRANTZ J.P., 1967 — Présence d'un aster au cours des mitoses de l'asque et de la formation des ascospores chez l'Ascomycète *Pustularia cupularis* (L.) Fuck. *C. R. Acad. Sc.*, Paris, 264 : 1274-1277.

SCHRANTZ J.P., 1970 — Étude cytologique, en microscopie optique et électronique, de quelques Ascomycètes. II. La paroi. *Rev. Cyt. et Biol. vég.* 31 : 111-168.

SCHRANTZ J.P., 1971 — Étude cytologique, en microscopie optique et électronique,

Source : MNHN, Paris

de quelques Ascomycètes. III. Le cytoplasme. *Rev. Cytol. et Biol. vég.* 34 : 1-48.

SCHUSSNIG B., 1921 — Ein Beitrag zur Kenntnis der Zytologie von *Tuber aestivum* Vitt. *Ak. Wiss. Wien, Math.-Nat. Kl.*, 130 : 127-146.

STIERS D.L., 1974 — Fine structure of ascospore formation in *Poronia punctata*. *Can. J. Bot.* 52 : 999-1003.

SYROP M.J. & BECKETT A., 1972 — The origin of ascospore-delimiting membranes in *Taphrina deformans*. *Arch. Mikrobiol.* 86 : 185-191.

THIERY J.P., 1967 — Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *J. Micr.* 6 : 987-1018.

WELLS K., 1972 — Light and electron microscopic studies of *Ascobolus stercorarius*. II. Ascus and ascospore ontogeny. *Univ. of Calif. Publ. in Bot.* 62 : 1-33.

WESTBROOK M.A., 1935 — Observations on nuclear structure in the *Florideae*. *Beih. bot. Centralbl.* 53 : 564-585.

YOO B.Y., CALLEJA G.B. & JOHNSON B.F., 1972 — Ultrastructural changes of the fission yeast *(Schizosaccharomyces pombe)* during ascospore formation. *Arch. Mikrobiol.* 91 : 1-10.

ZICKLER D., 1970 — Division spindle and centrosomal plaques during mitosis and meiosis in some Ascomycetes. *Chromosoma* (Berl.) 30 : 287-304.

Source : MNHN, Paris

LÉGENDES DES PLANCHES

Planche I. — *T. rufum.* Cellule pro-ascale à dicaryon, comportant trois zones cytoplasmiques superposées, × 20000. (coupes contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb).

en: endoascus, **ex** : exoascus, l: globule lipidique, **lo** : lomasome, **m** : mitochondrie, **n** : noyau, **re** : réseau endoplasmique, **v** : vacuole.

Planche II. — 1 : *T. rufum.* Dicaryon d'une cellule pro-ascale, dont chaque noyau présente un bec, × 8000. 2 : *T. aestivum.* Deux jeunes asques à noyau diploïde, avec plages de glycogène formées le long du plasmalemme, × 4500. 3 : *T. rufum.* Asque un peu plus âgé, avec glycogène plus abondant et réparti uniformément, sauf autour du noyau et de la zone péri-nucléaire, × 7000. (coupes contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb).

Planche III. — 1 : *T. aestivum.* Asque à noyau diploïde, avec empilement d'éléments du réseau endoplasmique au voisinage du noyau, × 8000. 2 : *T. aestivum.* Asque plus âgé, dont les constituants sont répartis dans deux zones bien distinctes : zone sommitale avec noyau, vacuoles et plages de glycogène et zone inférieure bourrée de glycogène, × 5000. (coupes contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb).

en : endoascus, **ex** : exoascus, **g** : glycogène, **n** : noyau, **v** : vacuole.

Planche IV. — 1 : *T. aestivum.* Lomasomes différenciés sur le trajet du plasmalemme, × 30000. 2 : *T. aestivum.* Noyau sporal et zone péri-nucléaire localisés près du plasmalemme, × 14000. 3 : *T. aestivum.* Lomasome émettant un diverticule vers l'intérieur du cytoplasme ascal, × 30000. (coupes traitées par la technique de Thiéry).

Planche V. — 1 : *T. aestivum.* Le diverticule lomasomien, plissé à la base, atteint le voisinage du noyau, × 20000. 2 : *T. aestivum.* Le diverticule s'incurve et se développe dans une nouvelle direction, × 20000. (coupes traitées par la technique de Thiéry).

n : noyau.

Planche VI. — 1 : *T. aestivum.* Le diverticule tend à se refermer à quelque distance du plasmalemme, × 10000. 2 : *T. aestivum.* Jeune ascospore avec paroi primordiale encore simple et lomasome générateur à proximité, × 6500. (coupes traitées par la technique de Thiéry).

Planche VII. — 1 : *T. rufum.* Jeune ascospore avec paroi primordiale encore simple, × 10000. (coupes contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb). 2 : *T. aestivum.* Boutonnières dans la paroi primordiale d'une ascospore, × 25000. (coupes traitées par la technique de Thiéry) 3 : *T. rufum.* Fragment de la calotte apicale et lomasomes générateurs, × 18000. (coupes contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb).

Planche VIII. — 1 : *T. rufum.* Jeune ascospore dont la paroi primordiale s'est refermée sur le lomasome générateur et s'est ensuite dédoublée, × 17000. 2 : *T. rufum.* Portion de l'asque sub-adulte montrant le sac post-sporal (sps) qui sépare l'épiplasme externe (ee),

Source : MNHN, Paris

bourré de glycogène, et l'épiplasme interne (ei), avec les derniers îlots de vacuoles à granule métachromatique, le glycogène en voie de lyse s'agglomérant en masses sphériques et le réseau endoplasmique bien développé, × 5000. (coupes contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb).

Planche IX. — 1 : *T. rufum*. Détail de l'épiplasme interne d'un asque sub-adulte montrant l'évolution du glycogène : ses rosettes sont englobées dans les tubules du réseau endoplasmique, lysées, puis leur «restes», rejetés au dehors, tendent à s'agglutiner, × 15000. 2 : *T. rufum*. Autre détail montrant l'accolement des tubules et des ampoules du réseau endoplasmique au sac post-sporal, × 15000. 3 : *T. aestivum*. Portion d'un asque sub-adulte montrant, outre une ascospore en cours de développement, l'épiplasme interne, qui contient de nombreuses masses de résorption du glycogène, le sac post-sporal, avec deux épaississements, et l'épiplasme externe, × 10000. (coupes contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb).

ee : épiplasme externe, **ei** : épiplasme interne, **sps** : sac post-sporal.

Planche X. — *T. rufum*. Portion de l'épiplasme interne d'un asque sub-adulte montrant trois ascospores et le réseau endoplasmique dense, × 6000. (coupes contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb).

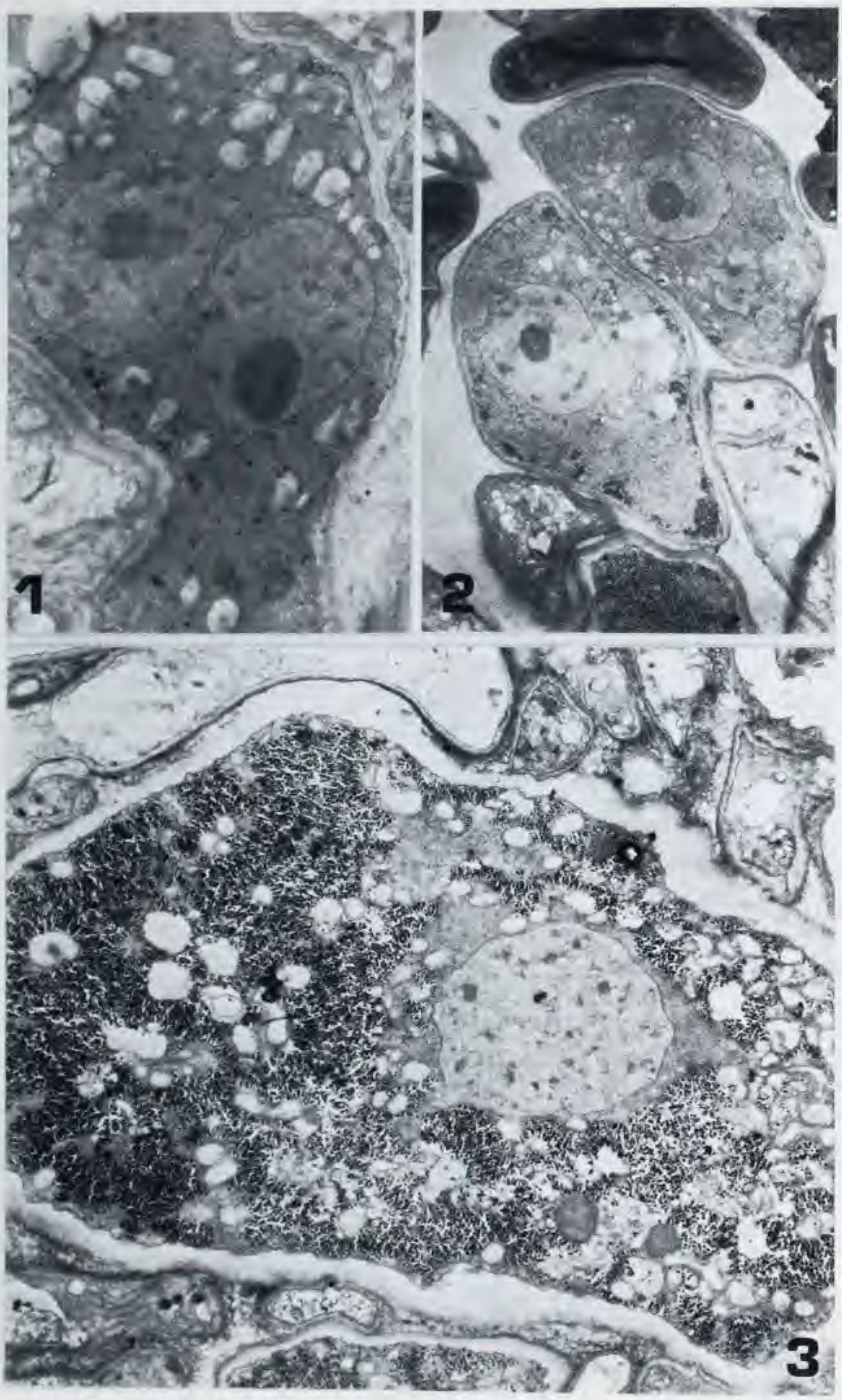
Planche XI. — *T. aestivum*. Portion de l'épiplasme interne d'un asque sub-adulte montrant deux ascospores abortives ou infantiles, × 10000. (coupes contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb).

Planche XII. — 1 : *T. rufum*. Portion d'asque adulte montrant la réduction du réseau endoplasmique dans l'épiplasme interne, × 9000. 2 : *T. aestivum*. Portion d'asque plus âgé, avec sac post-sporal repoussé contre le plasmalemme et épiplasmes en voie de désorganisation, × 9000. (coupes contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb).

asp : ascospore, **ee** : épiplasme externe, **ei** : épiplasme interne, sps : sac post-sporal.

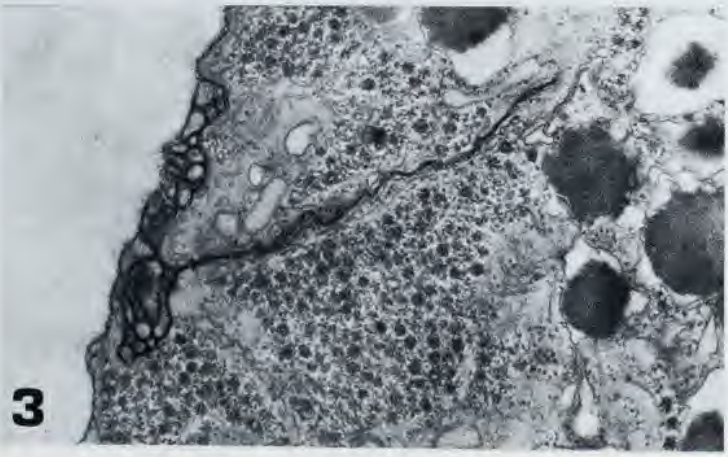
Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

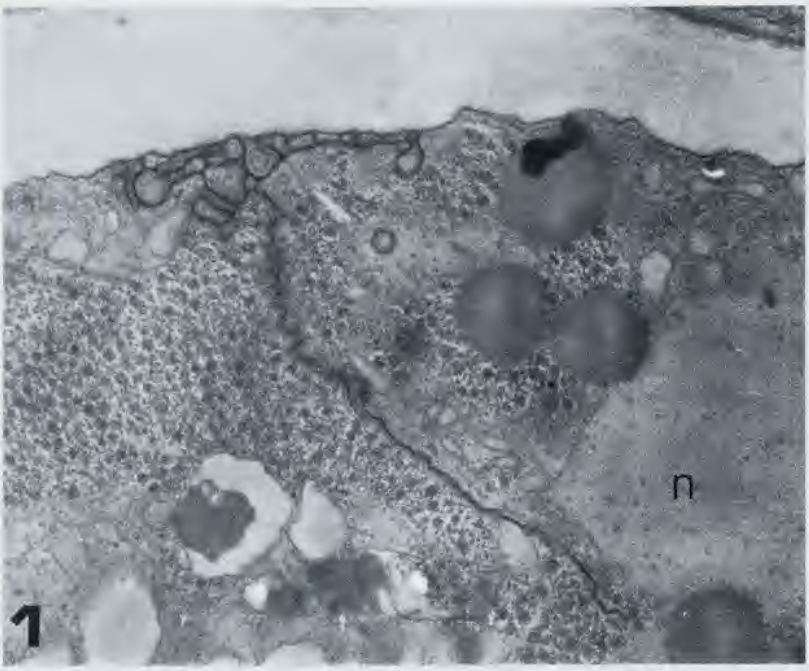


Source : MNHN, Paris

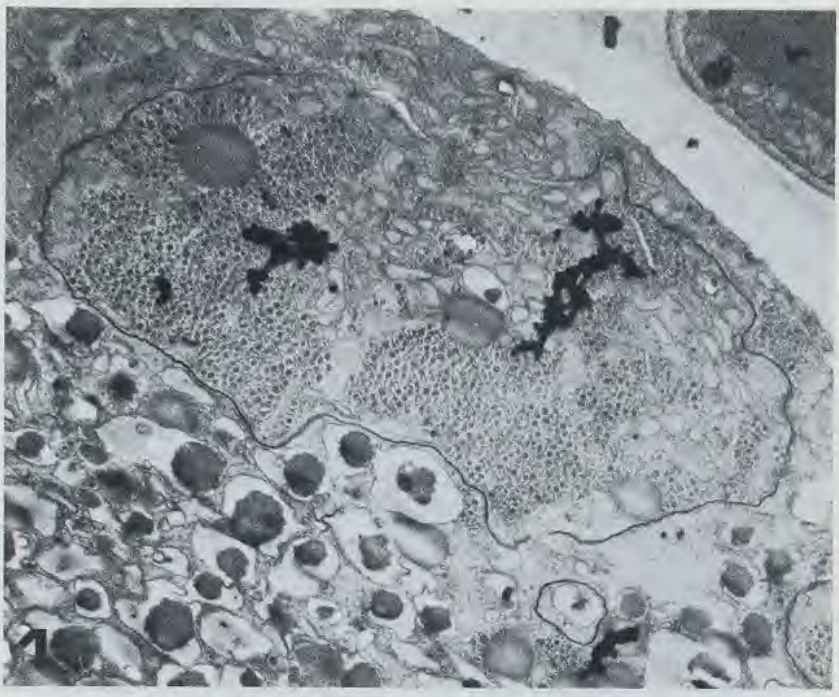
Source : MNHN, Paris



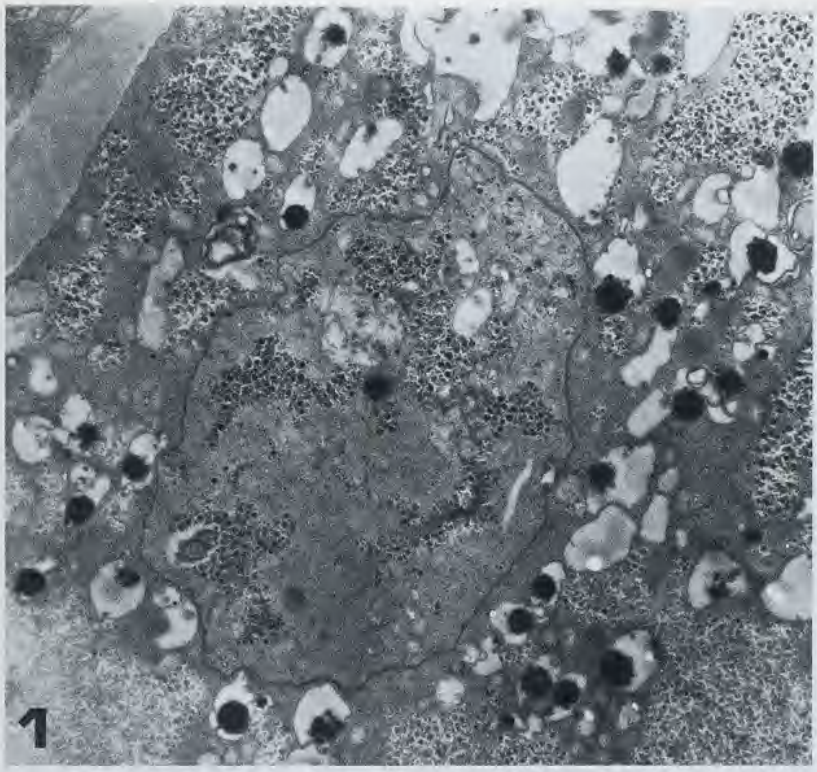
Source : MNHN, Paris

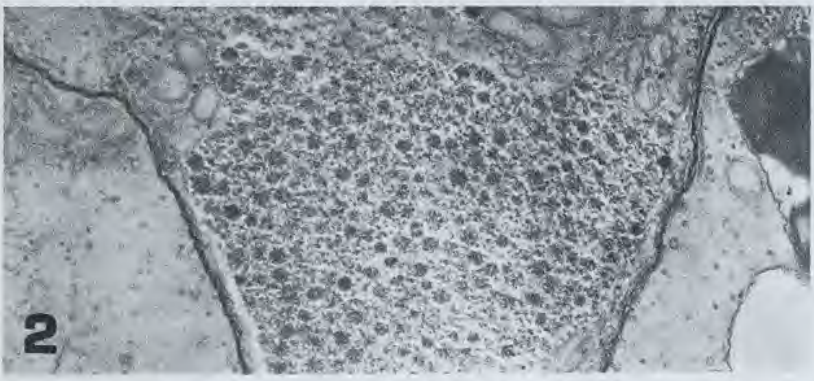


Source : MNHN, Paris

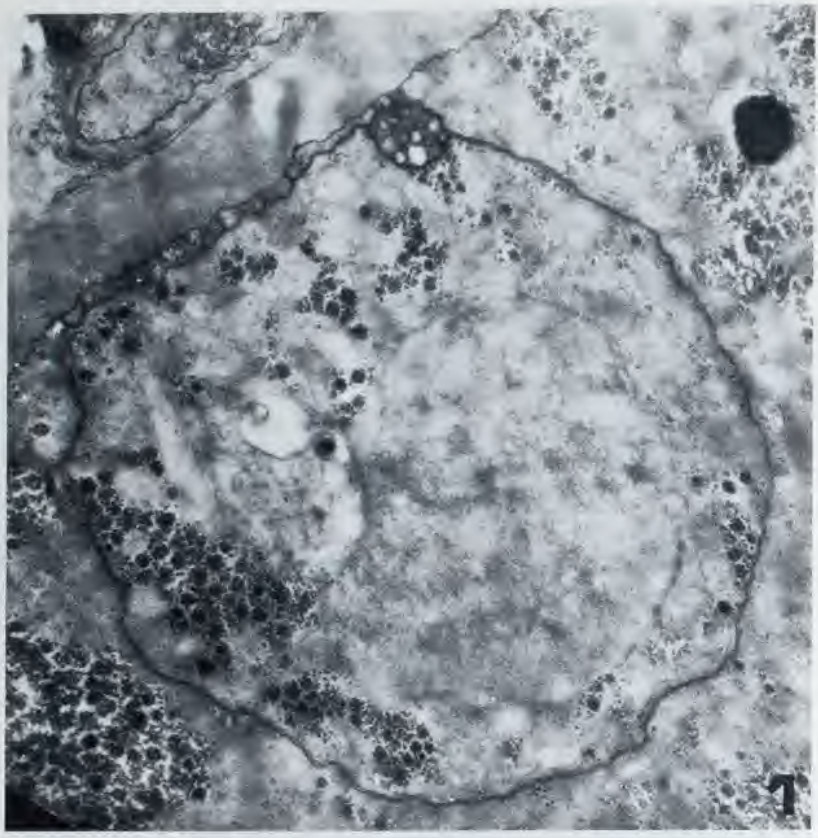


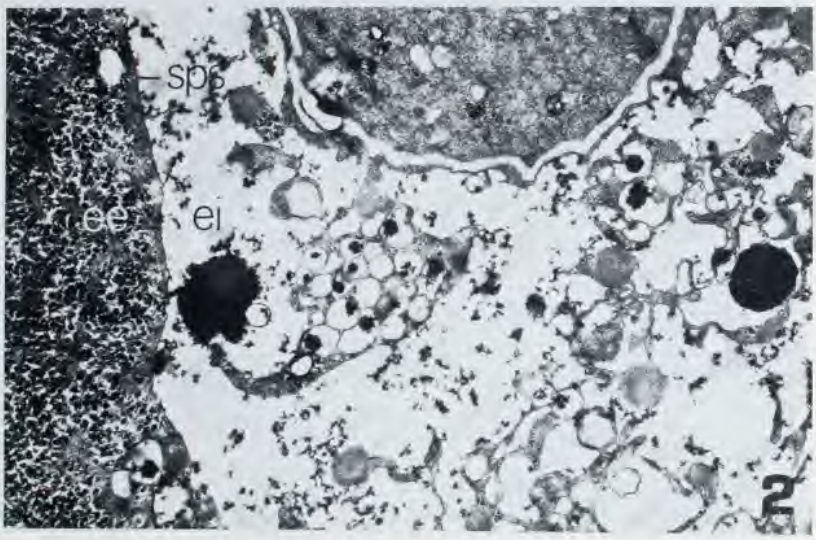
Source : MNHN, Paris



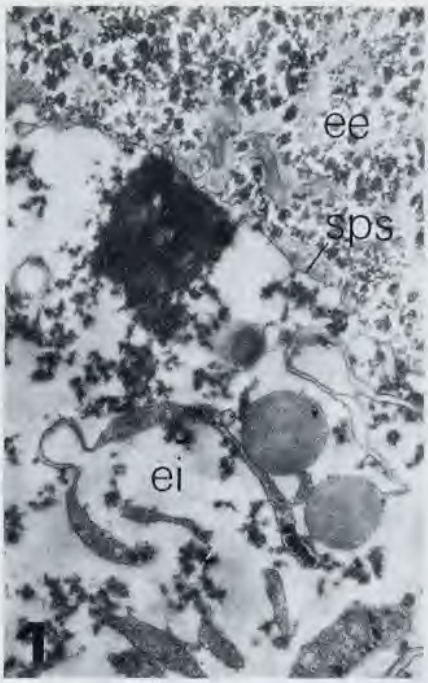


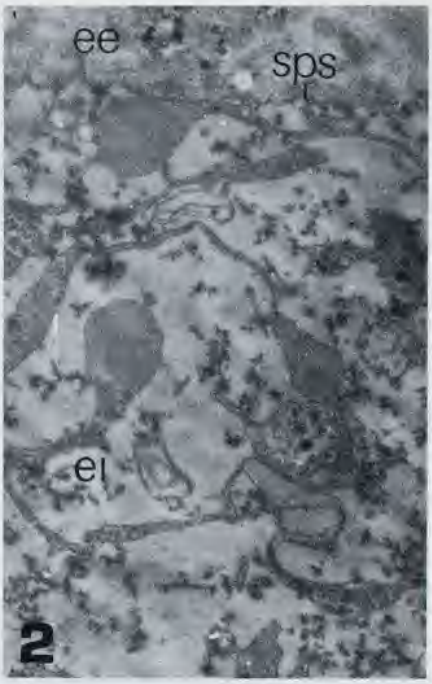
Source : MNHN, Paris

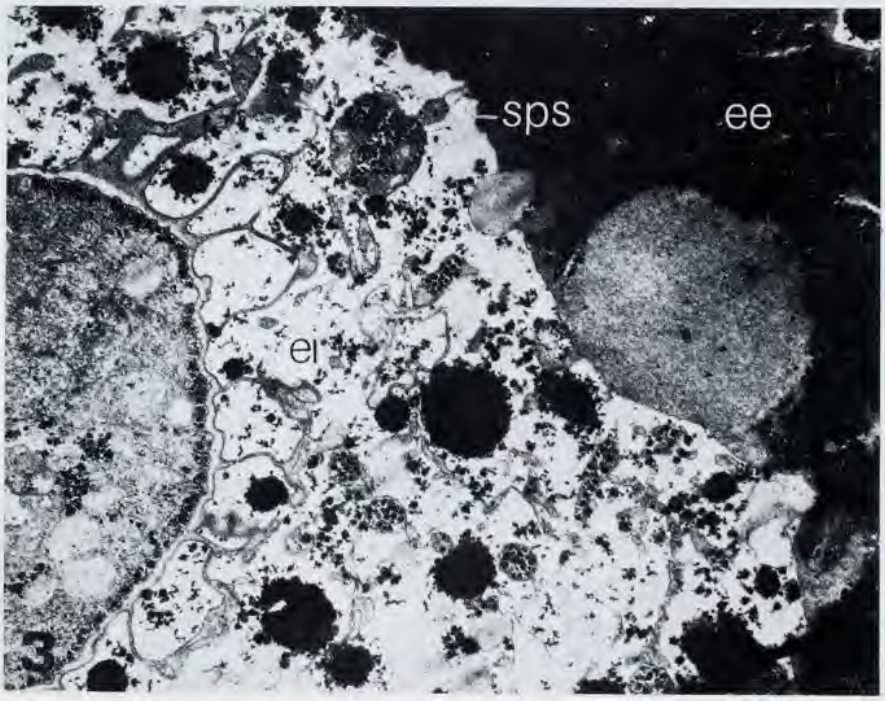




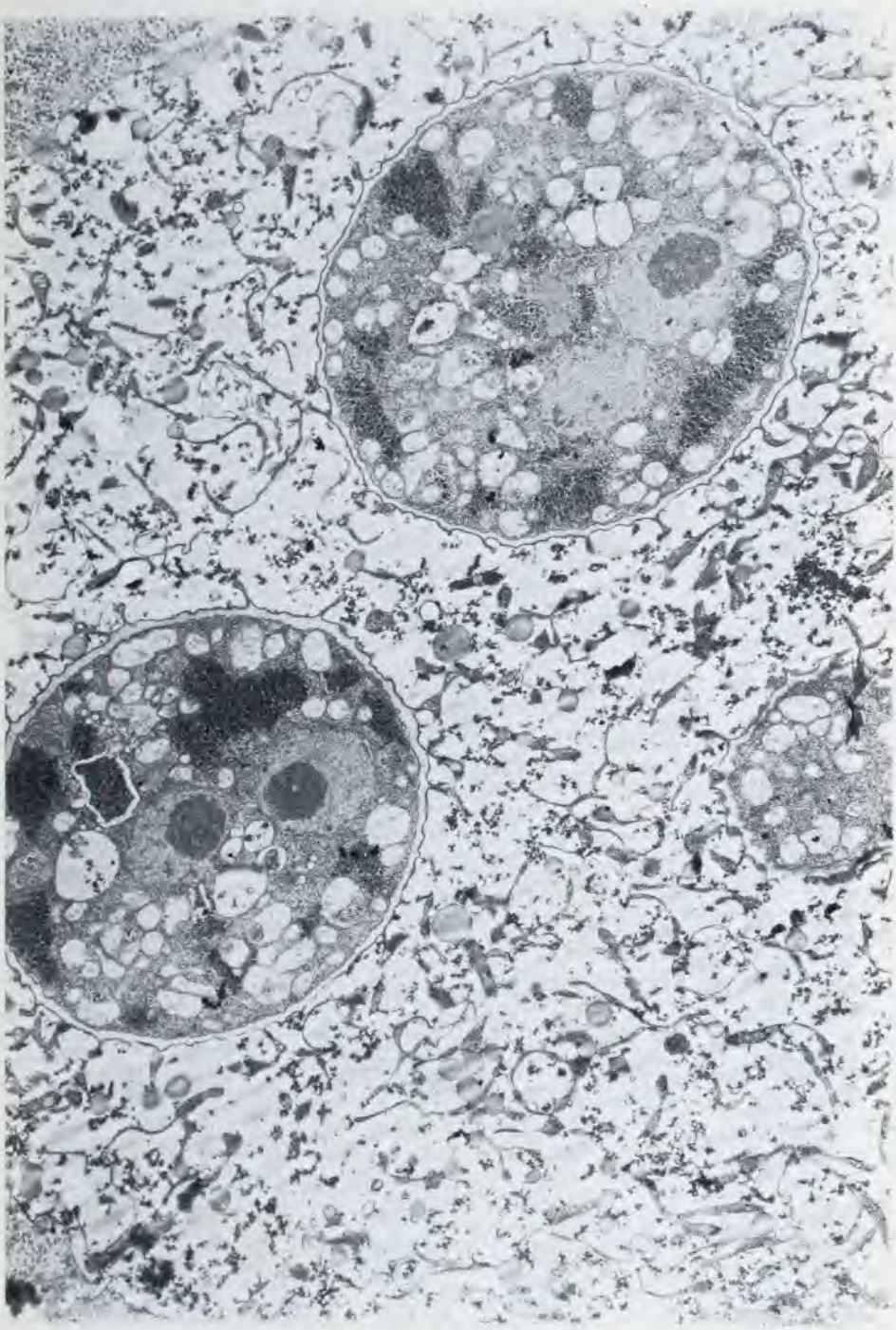
Source : MNHN, Paris



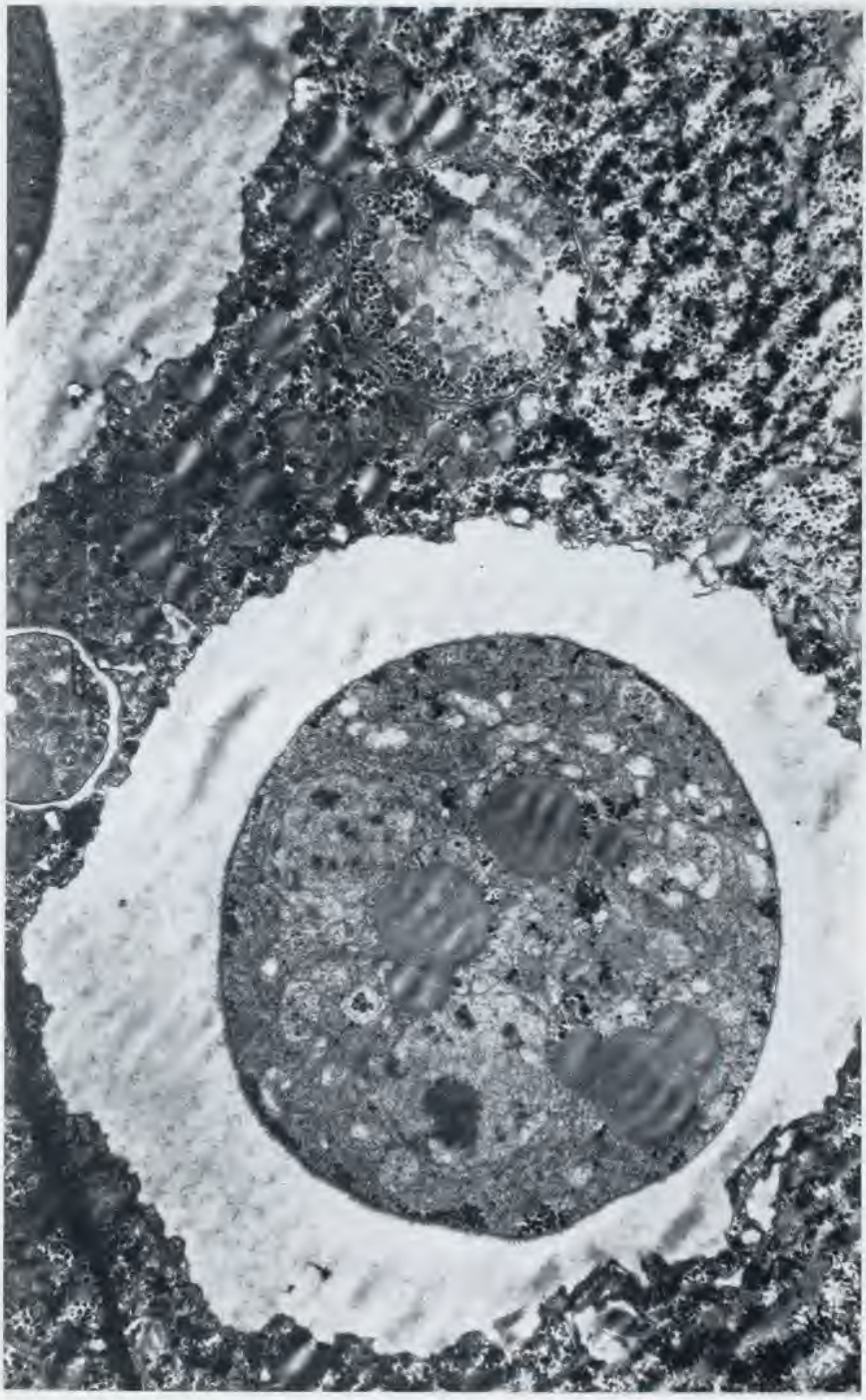




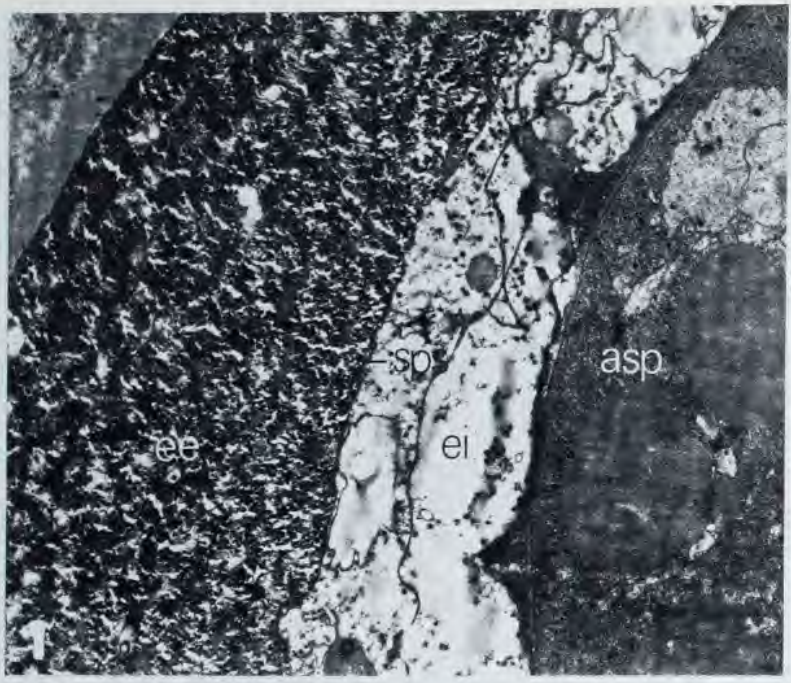
Source : MNHN, Paris

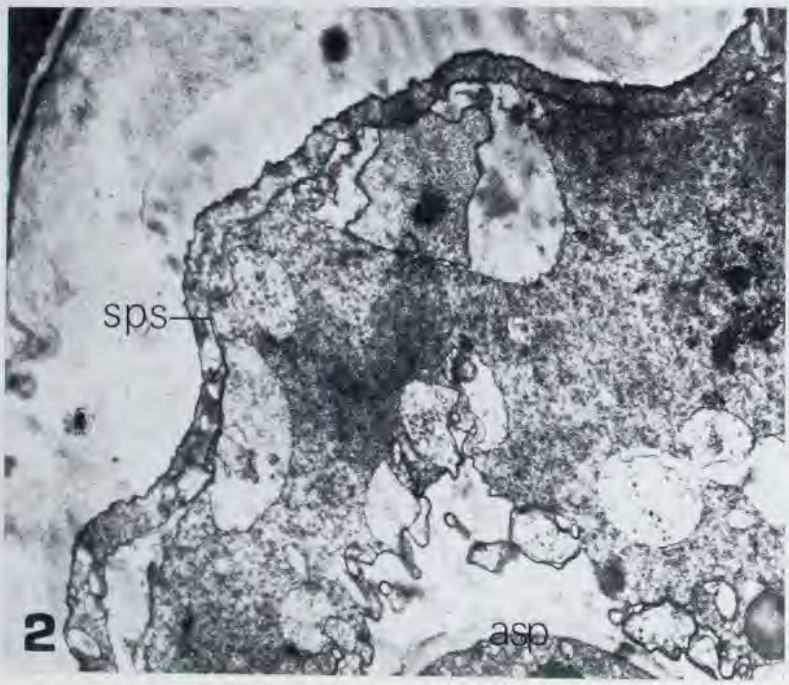


Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris





Source : MNHN, Paris

ÉTUDES SUR LA SPERMOFLORE FONGIQUE

par G. VIENNOT-BOURGIN *

RÉSUMÉ. — Les semences des plantes de grande culture, de même que celles des espèces spontanées, hébergent et transportent une flore fongique très diversifiée sous forme de spores adhérentes ou de mycélium superficiel ou inclus. La présence et la prolifération de nombreux composants de cette flore, considérés comme des «moisissures», sont assurées par des défectuosités d'ordre morphologique ou physiologique de la semence. Parmi les composants de la flore séminale existent en outre des «parasites actifs». Leur origine est variée. Certains interviennent d'abord dans la phylloflore (ce sont les plus nombreux) avant de se fixer sur la semence. D'autres, constamment endophytes dès le stade plantule, se développent en organotropiques, exigeant une phase séminale pour la réalisation complète de leur cycle évolutif.

Des études récentes effectuées à l'aide de graines de Lin (*Linum usitatissimum*) permettent de considérer une troisième catégorie de parasites des semences, représentée par l'*Alternaria linicola*. Initialement actif dans la phylloflore, il est présent sur la graine à l'état latent sous forme de spores libres et de mycélium superficiel ou inclus. Ce n'est qu'au delà de la germination effective de la graine qu'intervient la phase parasite et l'expression de la fonction pathogène. Celle-ci se traduit, dans un premier temps, par un phénomène de stimulation de la croissance de l'axe hypocotyle. Puis, à partir du sixième jour qui suit la germination, tandis que l'élongation de l'axe hypocotyle s'interrompt, apparaissent les symptômes maladifs (déformation axiale, altérations tissulaires). Il en résulte la destruction de 12 à 20 pour cent des plantules. Une interprétation de ces phénomènes est proposée.

Pour un grand nombre de plantes cultivées, ont été mis en évidence des spores de nature fongique, ou des conceptacles sporogènes, ou encore des mycéliums plus ou moins agrégés, subsistant au niveau séminal. C'est ainsi qu'on peut définir une spermoflore (par analogie avec une phylloflore ou une rhizoflore). La présence d'une flore particulière, installée soit à la surface, soit dans la profondeur d'une semence (fruit ou graine), permet à chacun de ses composants la poursuite d'une vie végétative s'accompagnant éventuellement d'une phase de sporulation. La spermoflore constitue ainsi un mode de conservation de

* Laboratoire de Pathologie Végétale; INA, 16 rue Claude Bernard 75005 Paris.

Source : MNHN, Paris

certaines espèces fongiques au delà de la période de récolte des semences. En outre, une telle situation est d'un grand intérêt sur le plan de la commercialisation, puisque la semence assure ainsi localement, ou territorialement, ou même d'un pays à un autre, le transport et la dissémination de la spermoflore qu'elle a acquise.

La mise en place d'une spermoflore commence à la période de transformation de l'ovule en graine, quelquefois même à l'époque qui suit immédiatement la fécondation. Elle se poursuit jusqu'à l'époque où la graine, ou le fruit, morphologiquement mûr, est susceptible d'être stocké, puis commercialisé et, finalement, soumis à la culture.

On peut alors, à partir de la plante porte-graines jusqu'au moment des semailles, considérer des étapes constitutives de la flore séminale. Celle-ci sera, en premier lieu et dans bien des cas, le reflet de la phylloflore qui s'établit progressivement au cours de la végétation de la plante, les mêmes espèces fongiques pouvant être déposées ou se développer indifféremment aux dépens de l'appareil végétatif ou des organes reproducteurs de la plante. De ce fait elle pourra comprendre des champignons se comportant en parasites ou en saprophytes. Il convient cependant d'excepter de ces situations homologues quelques rares espèces parasites dont le développement est lié au phénomène d'organotropisme. C'est le cas très classique du *Tilletia caries* (DC.) Tul. qui provoque la maladie de la carie des grains; la différenciation des chlamydospores est strictement localisée à l'amande du caryopse de blé.

Les constituants de la spermoflore sont presque toujours génériquement ou spécifiquement assez différents les uns des autres suivant la nature botanique de la plante. Certains rapprochements peuvent cependant être constatés en considérant des plantes-hôtes d'une même famille. Parfois aussi il est possible de définir une mycoflore polyphage, qui s'affirme comme étant en même temps saprophyte et ubiquiste. Pour une même plante, des variations dans la composition de la spermoflore interviennent en fonction de certaines qualités tégumentaires liées à la variété; la richesse en populations fongiques se trouve largement influencée par les conditions ambiantes qui ont accompagné la formation, la maturation, la récolte et la conservation des semences. On sait aussi qu'au sein des colonies mycéliennes réunies fortuitement en une «communauté» sur un même substrat, se réalisent des inter-relations microbiologiques d'antagonisme qui se traduisent par des effets prédateurs, la compétition nutritive, ou la production de substances inhibitrices ou antibiotiques.

FLORE SÉMINALE SAPROPHYTE

Dans ce qui suit, nous prendrons surtout en considération les espèces fongiques qui, présentes au niveau séminal, interviennent en entraînant, aux dépens de la plante issue de la germination, des altérations d'ordre morphologique, structural ou physiologique en liaison avec des nécessités de vie parasitaire. De ce fait, se trouve mise à part la flore fongique saprophyte qui peut cependant

Source : MNHN, Paris

jouer un rôle non négligeable dans des fonctions d'équilibre relatif entre micro-organismes. Cette flore saprophyte (ou secondaire) apparaît normalement, pour la plupart des semences de plantes de grande culture, au cours de deux périodes. La première lorsque la graine ou le fruit sont encore portés par la plante; la seconde risque d'intervenir au cours de la conservation des semences. Les composants de cette partie de la flore séminale sont, en général, disposés à la surface des téguments ou des enveloppes (ou encore des annexes) de la graine ou du fruit. Leur présence est liée à un phénomène de pollution par suite du transport de spores ou de fragments mycéliens par voie éolienne, sous l'influence de la pluie ou par simple gravitation. Leur fixation et leur persistance à la surface de la semence dépendent du taux d'inoculum et de certaines de ses qualités physiques, de la nature des épidermes, c'est à dire en fin de compte, des différentes forces qui impliquent les contacts épiderme-inoculum et la rétention de celui-ci. Il pourra s'en suivre la germination de la spore ou la prolifération du fragment du thalle ainsi déposés. La plupart des espèces fongiques considérées comme se comportant en saprophytes se placent dans le groupe des «moisissures» des semences. Certaines d'entre elles constituent des composants habituels de la mycoflore séminale, susceptibles d'être trouvés en tout lieu et en tout temps dans des lots de semences les plus divers. C'est le cas de *Alternaria chartarum* Preuss, *A. tenuis auct.*, *A. tenuissima* (Fr.) Wiltsh., *Cladosporium herbarum* (Lk.) Fr., *Epicoccum nigrum* Lk. D'autres espèces exigeant un taux d'humidité plus élevé et bénéficiant très souvent d'altérations superficielles tégumentaires, sont également ubiquistes et peuvent ainsi s'observer parfois en grande abondance au cours de prélèvements sur des semences de provenances différentes (*Aspergillus*, *Penicillium*, etc. .).

Il existe également certaines espèces fongiques qui ne sont présentes que sur une semence bien déterminée dont la provenance délimite quelquefois des localités précises. C'est le cas du *Penicillium chrysogenum* Thom qui n'a été constaté que sur des graines de lin à fibres en provenance d'Iran; il n'existe pas, apparemment, dans ce pays, sur les variétés à huile et fait défaut dans les cultures de lin des autres pays producteurs.

En tenant compte des analyses réalisées par PONCHET (1966) sur des caryopses de blé, ZAD (1975) pour des graines de lin, et nous-même pour des semences d'avoine (1972), on peut considérer que le cortège fongique qui accompagne une semence comporte à peu près uniformément :

	avoine	blé	lin
	(semences françaises)		
Aspergillus amstelodami (Mang.) Thom et Church			+
Aspergillus flavus Lk ex Fr.		+	+
Aspergillus niger van Tiegh.	+	+	+
Aureobasidium pullulans (de By) Arn.	+	+	+
Chaetomium funicolum Cke		+	+
Epicoccum nigrum Lk	+	+	+
Nigrospora sp.		+	

Source : MNHN, Paris

	avoine	blé	lin
Penicillium cyclopium Westl.			+
Penicillium expansum Lk	+	+	+
Rhizopus nigricans Ehrb.		+	+
Stemphylium botryosum Wallr.		+	+
Trichothecium roseum Lk	+	+	+

Quelques unes de ces espèces dépassent le stade saprophytique en s'installant sous forme d'hyphes isolées ou de plexus mycéliens dans les couches tégumentaires, à la périphérie de l'amande ou même au contact de l'embryon. C'est ainsi que PONCHET (1966) a identifié l'*Epicoccum nigrum* dans l'épicarpe et l'endocarpe du caryopse du blé, le *Fusarium nivale* (Fr.) Ces., *Alternaria* sp. dans les cellules de l'épicarpe. ZAD (1976) a montré, toutefois de façon exceptionnelle, que l'*Aspergillus flavus* Lk et Fr. s'établit dans les couches profondes tégumentaires des graines de lin. Cette observation, qui dénote une possibilité d'endophytisme accusé, confirme celle de HARMAN et PFLEGER (1974) qui ont constaté, à la suite de contaminations expérimentales, que cet *Aspergillus* peut s'installer au niveau de l'embryon du blé.

FLORE SÉMINALE PARASITE

Cette partie de la flore séminale se présente sous différents aspects. On peut distinguer :

1. – des espèces normalement dévolues à la phylloflore qui se développent également aux dépens des pièces florales. Le parasite est cependant fortuit au niveau de la semence.
2. – des espèces parasites stricts de la semence, celle-ci pouvant être détruite ou occupée en permanence.
3 – des espèces déposées sous forme de spores ou de mycélium sur les surfaces tégumentaires, susceptibles de se fixer sur la semence sans toutefois, dans l'immédiat, exercer une fonction parasitaire.

1. – Espèces parasites appartenant à la phylloflore, pouvant intervenir dans la composition de la spermoflore

Pour un grand nombre de plantes sauvages ou cultivées, les différentes pièces florales, de la même manière que les autres organes aériens de l'appareil végétatif, sont susceptibles d'héberger des champignons parasites, d'en permettre le développement, et, éventuellement d'en assurer la conservation. C'est ainsi que le *Puccinia graminis* Pers. ou rouille noire, ou le *P. striiformis* West., ou rouille jaune, constituent des sores à la fois sur les feuilles et les gaines foliaires du blé, mais aussi sur les glumes, les glumelles et le péricarpe du caryopse. Dans la plupart des cas, les sores sont très comparables à ceux produits aux dépens du mésophylle. Plus rarement on assiste à la constitution de «sores

Source : MNHN, Paris

internes» totalement inclus, et de ce fait, clos. Si KLEBAHN (1899) a, le premier, constaté des écidies incluses dans le cylindre central de la tige du *Carum carvi* L. déformé par le *Puccinia cari-bistortae* Kleb., c'est STAMPLI (1910) qui a signalé la présence de pycnides fermées d'*Uromyces pisi* (DC.) Otth dans les loges carpellaires des fruits de *Tithymalus*. REDDICK (in WOLF 1913) a trouvé des écidies closes, mais fonctionnelles, dans la pulpe des fruits de *Berberis* contaminés par le *Puccinia graminis*. ERIKSSON (1914) figure des caryopses de blé porteurs de sores à urédospores du *Puccinia striiformis*. Aux Indes, SATHE (1972), étudiant une altération des grains de blé, connue sous le nom de «moucheture» ou «black point», a constaté des sores à téleutospores du *P. graminis* dans le péricarpe. A partir de graines de muflier (*Antirrhinum majus* L.) en provenance de Californie, HARMAN et coll. (1973) ont observé, au niveau de l'embryon, un mycélium qui, après quelques jours d'imbibition des semences, a produit des urédospores et des téleutospores du *Puccinia antirrhini* Diet. et Holw. Pour le *Puccinia malvacearum* Mont. vivant sur de nombreuses Malvacées, le calice persistant porte des pustules sporogènes qui entraînent la contamination des akènes.

L'une des conséquences de la présence de conceptacles fertiles à la surface des caryopses du blé est l'hypothèse mycoplasmique formulée par le savant suédois ERIKSSON (1901, 1910) pour expliquer la perpétuation des rouilles et leur activité printanière sur les jeunes semis. Cette théorie, très controversée, puis abandonnée, retrouve une certaine valeur puisque, récemment, aux États Unis, FUTTREL (1972) a établi l'endophytisme du *Fusarium moniliforme* (Sheldon) Snyd. et Hans. qui se traduit, dans les cellules de l'embryon du maïs, par une véritable association sous forme de corps mycoplasmiques.

Ce mode d'existence aux dépens des semences, illustré par l'étude des Urédinées, se retrouve fréquemment chez d'autres champignons et en particulier chez les Adélomycètes ou *Imperfecti*. C'est précisément pour ces derniers que leur présence et leur maintien aux dépens de la semence permettent d'expliquer la fréquence du développement précoce de certaines épidémies sur les plantules et les jeunes semis.

L'étude de cette flore particulière se réalise au laboratoire en mettant en oeuvre la «méthode d'Ulster» tout d'abord préconisée en Irlande, décrite par MUSKETT et MALONE (1941) dans le but de révéler le *Colletotrichum lini* (Westerd.) Toch. et le *Kabatiella microsticta* Bub. = *Polyspora lini* Laff. parasites du lin. L'application de cette méthode, aujourd'hui universellement connue, est recommandée par l'International Seed Testing Association (I.S.T.A.).

Au niveau des enveloppes du fruit, ou de ses annexes (glumelles des Graminées, bractées accrescentes de la betterave), le parasite reste vivant, tantôt sous forme mycélienne, tantôt en fructifiant (apparition d'acervules ou de pycnides pour les Adélomycètes, de conceptacles ascogènes pour des Erysiphacées ou des Pyrénomycètes, chlamydospores du *Protomyces macrosporus* Ung., dans les akènes de *Coriandrium* provenant des Indes. En atmosphère humide se révèlent certains *Peronospora* dont on observe par ailleurs les oospores.

Source : MNHN, Paris

On peut ainsi détecter en examinant des semences d'origine française de quelques plantes cultivées :

Ascochyta pinodes Jones . . . . . pois
Ascochyta pinodella Jones . . . . . pois
Ascochyta pisi Jones . . . . . pois
Botrytis anthophila Bond . . . . . trèfle
Botrytis cinerea Pers. . . . . tournesol
Cercospora beticola Sacc. . . . . betterave
Cercospora carotae (Pass.) Solh. . . . . carotte
Colletotrichum Lindemuthianum (Sacc. et Magn.) Br. et Cav. . . . . haricot
Colletotrichum lini (West.) Toch. . . . . lin
Epichloe typhina (Pers.) Tul. . . . . *Festuca rubra*
Fusarium nivale Ges. . . . . blé
Fusarium oxysporum Schlecht. . . . . fève
Fusarium roseum (Lk) Snyd. et Hans.
var. *culmorum* (Schwabe) Sn. et H. . . . . blé
var. *graminearum* (Schwabe) Sn. et H. . . . . blé
Heteropatella lacera Fck. . . . . carotte
Leptosphaeria modesta (Desm.) Sacc. . . . . carotte
Peronospora farinosa Fr. . . . . betterave
Peronospora pisi Syd. . . . . pois
Peronospora spinaciae Laub. . . . . épinard
Peronospora valerianellae Fck. . . . . valerianelle
Peronospora viciae (Berk.) Gäum. . . . . vesce
Phoma exigua Desm. var. *linicola* (Naoum. et Wass.) Mass.
= *Ascochyta linicola* Naoum. et Wass. . . . . lin
Phoma obtusa Fck . . . . . carotte
Phoma Rostrupii Sacc. . . . . carotte
Plasmopara helianthi Novot. . . . . tournesol
Pleospora Bjoerlingii Byford
= *Phoma betae* Frank . . . . . betterave
Septoria apiicola Speg. . . . . céleri
Septoria daucina Brun . . . . . carotte
Septoria linicola Speg. . . . . lin
Septoria nodorum Berk. . . . . blé
Septoria petroselini Desm. . . . . persil

Certaines plantes sauvages sont assez remarquables par la localisation et l'abondance, sur les fruits verts, de conceptacles sporogènes de champignons parasites habituellement inféodés au feuillage. Un exemple est celui de plusieurs Erysiphacées telles que l'*Erysiphe communie* (Wallr.) Lk qui est toujours bien représenté sur les fruits du *Circaea lutetiana* L.; ou l'*Erysiphe umbelliferarum* de By. dont les conceptacles ascogènes sont si nombreux qu'ils recouvrent entièrement les flancs des akènes de l'*Heracleum sphondylium* L. Les graines de *Valerianella olitoria* Poll. sont parfois enrobées du mycélium conidifère d'un *Oidium* sp.; la courte viabilité des conidies ne permet pas cependant,

Source : MNHN, Paris

dans ce cas, d'admettre la conservation du parasite par voie séminale.

Au cours de recherches réalisées à notre laboratoire sur la mycoflore des graines de *Linum usitatissimum* L. (variétés à fibres ou productrices d'huile), ZAD (1975), a montré que les analyses superficielles ne procurent pas le dénombrement total des composants de cette flore, des conceptacles fertiles pouvant s'établir en profondeur en s'appuyant soit sur l'assise membraniforme, soit sur la couche chromogène au contact de l'albumen. C'est le cas de pycnides du *Phoma exigua* var. *linicola*, du *Septoria linicola* qui se présentent alors comme des outres allongées venant s'ouvrir dans la couche mucilagineuse. On a constaté également des acervules inclus pour le *Colletotrichum lini*. Sur le tournesol un examen en surface des akènes peut permettre de noter l'existence de microsclérotes du *Verticillium dahliae* Kleb. mais on en observe par ailleurs dans la profondeur tégumentaire. La contamination interne de graines d'épinard ou de betterave par ce champignon a été récemment démontrée (van der SPEK 1972). D'autre part, en inoculant des jeunes plantes d'aubergine à l'aide de souches virulentes de *V. dahliae*, RIBEIRO (1972) a constaté que le parasite peut s'installer dans toute la plante et se maintenir dans la graine. DJERBI (1970) a trouvé de véritables nappes mycéliennes de *Fusarium roseum* var. *culmorum* dans les cellules épicarpiques et mésocarpiques, jusqu'à la bande hyaline de grains de blé en provenance de Tunisie. Citons également LOCKE & COLHOUN (1973) qui observent que les graines de palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) renferment quelquefois le mycélium du *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *elaeidis* Toovey.

2. — Parasites stricts des semences

Les espèces fongiques appartenant à ce groupe qui est bien représenté sur les Graminées, mais qu'on observe aussi aux dépens de plantes de familles très différentes, ont une biologie bien particulière du fait de leur mode de développement. Le cycle évolutif de ces espèces fait intervenir tantôt une semence infectée par un mycélium disposé au niveau de l'embryon (*Ustilago nuda* (Jens.) Rostr.) de l'orge ou du blé, tantôt une plantule qui se trouve infectée au cours des premiers stades de sa croissance (*Tilletia* sp. des Graminées, *Ustilago hordei* (Pers.) Lagerh., *Sorosporium melandryi* Syd. sur le *Melandryum pratense* Roehl.). Ces espèces sont placées dans le groupe des «parasites généralisés» pour lesquels le mycélium, disposé en dicaryon, progresse de façon ascendante dans toute la plante, mais dont la sporulation (formation des chlamydospores, ou cellules probasidiales) est le plus souvent limitée aux organes reproducteurs (*Tilletia*) ou au jeune caryopse ou à ses enveloppes (*Ustilago*, *Sorosporium*). Cette prédilection n'est cependant pas absolue puisque, par exemple, le groupe morphologique d'espèces que représente l'*Ustilago striiformis* (West.) Niessl des Graminées spontanées, se développe aussi bien sur les feuilles que dans la panicule, que l'*U. nuda* a été observé sur la gaine et le limbe du blé ou de l'orge (VIENNOT-BOURGIN 1935), et que l'*U. maydis* (DC.) Cda forme des tumeurs à la fois dans les épis, sur les tiges et même aux dépens des racines du maïs.

Source : MNHN, Paris

La biologie de ces parasites a été très étudiée; ils sont à l'origine des «maladies charbonneuses» qui entrainent dans la plupart des régions de culture de céréales des pertes sensibles de rendement.

En raison de leur mode de développement ces parasites sont habituellement considérés selon deux groupes : les charbons «nus» (*Ustilago nuda*) qui détruisent la quasi totalité des pièces florales d'un épi ou d'une panicule (VIENNOT-BOURGIN 1935-1965) et dont les spores, acheminées par le vent ou la pluie, se fixent sur le jeune ovaire d'une fleur saine, germent en quelques heures, réalisent rapidement un thalle en dicaryon qui pénètre en un point quelconque de la paroi ovarienne pour se stabiliser finalement au sein des tissus embryonnaires (BATTS 1955). Des spores de charbon «nu» existent parfois dans des prélèvement réalisés à la surface des grains; ce sont des «polluants» qui n'ont pas de conséquence ultérieure. Le second groupe est celui des charbons «vêtus» et des «caries» dont les amas sporifères, jusqu'alors protégés par les enveloppes florales, sont libérés au moment de la récolte. Les spores sont fixées sur la surface de la semence. Elles entrent en activité un peu après la germination du grain et le filament qui en est issu contamine la plantule. De nombreuses spores de *Tilletia* ou d'*Ustilago hordei*, ou de *Sorosporium*, risquent de se trouver ainsi mêlées à la spermoflore.

3. – Spores ou fragments mycéliens d'abord saprophytes, puis exerçant une fonction parasitaire au-delà de la germination des semences

Dans un premier temps, l'analyse d'une spermoflore confond les espèces parasites déposées sur la semence sous forme de spores ou de fragments mycéliens, les espèces saprophytes ainsi que celles du premier groupe, c'est à dire les constituants de la phylloflore pouvant intervenir dans la spermoflore. On doit reconnaître que certaines d'entre elles ont une morphologie assez comparable; il en est qui appartiennent au même genre (par ex. *Alternaria*, *Fusarium*, *Helminthosporium*). Ce n'est donc que l'étude des caractères culturaux et, éventuellement, la réalisation de contaminations expérimentales sur des plantules, qui permettent de définir les aptitudes au parasitisme.

Ces espèces proviennent en général de la phylloflore dont elles ont été libérées sous l'effet de différents mécanismes (éclatement des sores, balayage des amas sporifères, déhiscence des conceptacles, arrachage de filaments mycéliens). Bien évidemment, le dépôt à la surface de la graine ou du fruit ne supporte pas de règle. Il est essentiellement fonction de la richesse en inoculum dans l'atmosphère ou sur la plante et reste soumis aux facteurs de dissémination. Cependant, en effectuant des prélèvements sur des semences à des états de maturité progressifs, on constate des variations notables dans la composition de la microflore; certaines espèces prolifèrent rapidement et deviennent dominantes; d'autres, au contraire, ne se multiplient pas et peuvent même disparaître totalement. Ces changements dans la nature de la biocénose au niveau des enveloppes de la graine ou du fruit sont en relation avec une adaptation plus ou moins prononcée du champignon à la vie saprophytique, ou avec la longé-

Source : MNHN, Paris

vité des spores. De telles modifications sont également fonction des interactions entre des espèces fongiques souvent très distinctes quant à leurs exigences physiologiques.

Parmi les champignons ne jouant apparemment aucun rôle destructeur aux dépens de la semence il en est qui, à la faveur de la germination, deviennent cependant des parasites actifs, destructeurs de la plantule. C'est le cas de l'*Alternaria linicola* Groves et Skolko des graines de lin, qui est une espèce dont certains caractères biologiques révélés par des études accomplies à notre laboratoire depuis 1973 (ZAD 1975) permettent de mieux interpréter son rôle au sein de la spermoflore.

Agnès LEDUC (1958) qui a fait une analyse assez complète de la flore fongique des graines de lin, rappelle la morphologie de l'*A. linicola*. Cet auteur le considère comme représentant bien, dans le genre *Alternaria*, le type des noncaténées, où les macroconidies sont formées isolément à partir d'un court conidiophore. La spore présente tous les caractères structuraux des autres espèces d'*Alternaria* mais au lieu d'être prolongée par un appendice effilé, cloisonné ou non transversalement (quelquefois désigné sous le nom de bec), ce prolongement est bifide. Ce caractère est d'ailleurs commun à plusieurs espèces d'*Alternaria* réunies en une «espèce collective» : *A. dauci* (Kühn) Groves et Skolko (selon JOLY 1964).

L'*Alternaria linicola* est présent dans presque tous les lots de graines de lin, quelle qu'en soit l'origine géographique. Il contribue avec d'autres espèces de ce genre (en particulier *A. chartarum* Preuss, *consortiale* (Thüm.) Hughes, *tenuissima* (Fr.) Wiltsh. à l'apparition de la «moisissure verte» des semences de lin. Aux dépens des autres organes de la plante : tige, feuilles, capsule, ce champignon se comporte comme un parasite de faiblesse intervenant sur des plantes en mauvais état physiologique. Il s'installe difficilement lorsqu'il est disposé sur un épiderme intact. A la surface des graines la sporulation est effective mais toujours médiocre à la température de 22° en lumière diffuse constante. En culture pure, sur un milieu gélosé à base de maltéa à 2% (qui a été sélectionné parmi beaucoup d'autres) le mycélium se développe régulièrement mais reste peu fertile. On augmente cependant nettement la sporulation en utilisant l'exposition des cultures aux effets de rayons ultraviolets (tubes fluorescents UV, 30 watts, à 50 cm de distance pendant 2 heures), selon la méthode préconisée par CHARLTON (1953) pour l'*Alternaria dauci* (Kühn) Groves et Skolko f. *solani* (Ell. et Mart.) Neergaard de la tomate et de la pomme de terre. Cette technique a été améliorée par LEACH (1964, 1966) pour l'*Alternaria chrysanthemi* Schmidt. D'autre part, en utilisant des disques de papier filtre imbibés d'eau stérile, sur lesquels sont disposées des graines de lin contaminées, on obtient une sporulation abondante au début de l'expérience, mais au-delà de dix jours la culture devient infertile.

L'étude d'une graine de lin porteuse de colonies d'*Alternaria linicola* permet d'observer le mycélium qui rampe superficiellement ou pénètre dans la couche mucilagineuse sous forme de crampons ou de réseau. Il est absent dans les assises profondes des téguments de la graine.

Source : MNHN, Paris

Les semences de lin naturellement porteuses d'*A. linicola* germent selon un taux convenable assez comparable à celui obtenu à l'aide de graines préalablement désinfectées superficiellement. Ce taux est cependant diminué de 2 à 4 pour cent en présence d'une suspension de spores.

L'*A. linicola* ne se comporte donc pas en pathogène au cours de la formation, de la maturation et de la conservation de la graine de lin.

Par contre, lorsqu'on examine des plantules en voie de croissance se trouvant en présence du mycélium d'*A. linicola*, on constate 2 phénomènes que l'on peut rapporter aux conséquences d'une fonction parasitaire.

1. allongement anormal de l'axe hypocotyle durant les premiers jours qui suivent la germination.
2. cette période de croissance active s'interrompt brusquement tandis que se produisent des déformations accusées de l'axe hypocotyle (torsion, asymétrie axiale) ainsi que le brunissement localisé de l'épiderme et du parenchyme cortical.

Ces différentes manifestations peuvent être imputées à la mise en oeuvre, par le champignon, de substances provoquant le déréglement de la croissance de la plante-hôte. La présence de substances élaborées et rejetées par le parasite dans le milieu de culture qui assure son développement a été mise en évidence par l'emploi de la technique des anneaux gélosés, basée sur les possibilités de diffusion au travers d'une membrane de parafilm, telle qu'elle est décrite par WILLIAMS & WILLIS (1962) ou par PELHATE (1968) pour l'étude des interactions fongiques. Légèrement modifiée par ZAD (1975), cette technique permet de disposer des graines de lin, préalablement désinfectées superficiellement, à la surface libre de la membrane en parafilm, et d'en observer la germination sous l'influence des substances diffusibles provenant d'une culture pure d'*A. linicola* réalisée à l'intérieur de l'enceinte constituée par l'anneau.

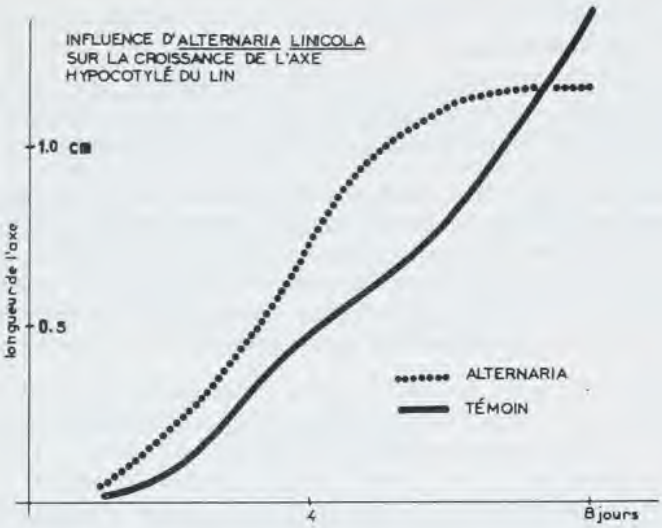
A partir du moment où s'accentue l'élongation de la radicule issue de la germination proprement dite, qui est précédée de l'imbibition et de la rupture des enveloppes séminales selon les définitions de EVENARI (1957) et de COME (1968, 1970, 1975), on constate de façon plus précise que précédemment que :

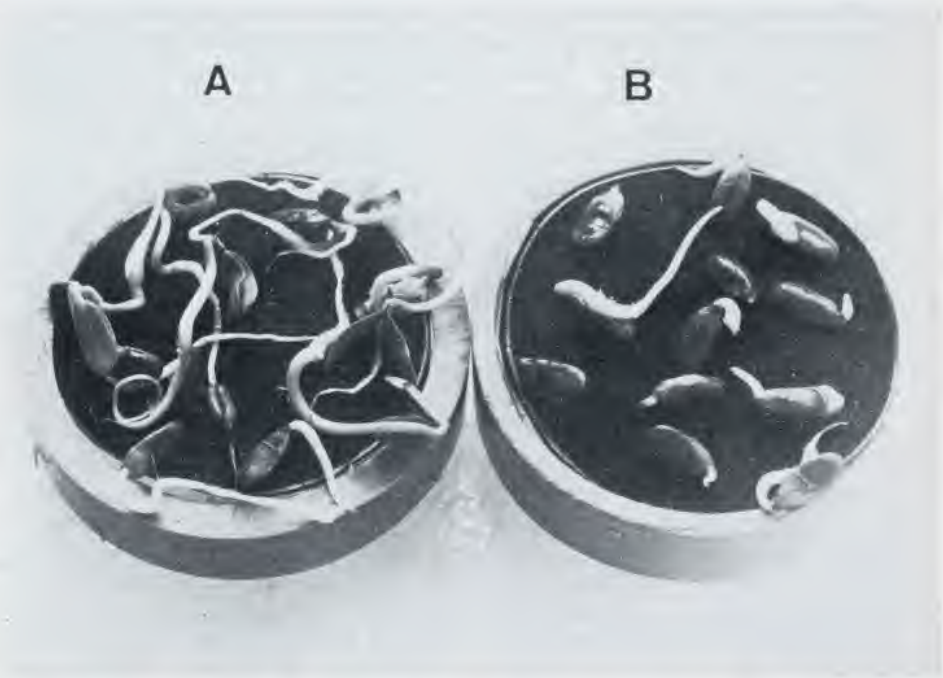
1. Hors de toute présence mycélienne, au cours des huit premiers jours de la croissance de l'axe hypocotyle, celle-ci subit une accélération très sensible qui a pu être évaluée par rapport à un témoin (fig. 1).
2. Au-delà de cette période intervient une dépression marquée de la croissance de l'axe hypocotyle. Elle se complique de déformations axiales très apparentes. Après le dixième jour qui suit la germination on peut compter de 12 à 32 pour cent de plantules détruites.

A ce moment précis, l'*A. linicola* exprime sa fonction pathogène.

La stimulation anormale constatée dans le premier temps, favorisée par le processus de germination et par la modification du substrat due à une quantité suffisante d'eau pour permettre la croissance de la plantule et l'activité du

Source : MNHN, Paris





Germination, sur anneau, de graines de lin (observation au bout de 4 jours). A : stimulation due à la présence de l'*Alternaria linicola*. B : lot témoin.

Source : MNHN, Paris

champignon, peut-être envisagée comme résultant de la production, par le parasite, d'une vivotoxine dont l'action directe ou indirecte provoque l'allongement de l'axe hypocotyle.

L'altération dans la croissance et dans la morphologie qui se manifeste ensuite, correspondrait à une inhibition liée à une plus forte concentration de la toxine dont la nature n'a pu cependant être établie avec certitude.

D'autres arguments militent en faveur de la production d'un principe toxique par le champignon. Ainsi que l'avait remarqué Agnès LEDUC (1958) en même temps que des modifications de structure liées à la circulation des hyphes dans les parenchymes, on constate fréquemment, sur des plantules contaminées, des îlots de nécrose souvent sans rapport avec le cheminement mycélien. On peut alors admettre que la vivotoxine agit à distance.

Par ailleurs, à partir de cultures pures de plusieurs espèces d'*Alternaria*, ont été mises en évidence des substances très diverses, phytotoxiques ou antifongiques, ou même antibactériennes. BRIAN et col. (1949) ont isolé, d'une souche d'*A. solani* (E. & M.) Jones & Grout, l'acide alternarique qui exerce une activité antifongique sur la germination de divers champignons. Cette substance, étudiée par POUND & STAHMANN (1951) s'est révélée phytotoxique lorsqu'elle est injectée à des concentrations très faibles à des jeunes plantes de tomate. Selon DARPOUX et col. (1952) elle a des propriétés antagonistes vis à vis des bactéries inféodées aux plantes ou aux animaux supérieurs. Les travaux de HIROE & AOE (1954) définissent une vivotoxine à partir de l'*A. kikuchiana* Tanaka du Poirier du Japon. La tentoxine, purifiée à partir de cultures de l'*A. alternata* (Fr.) Keissler, provoque la chlorose de nombreuses espèces de Dicotylédones à l'exception toutefois de la tomate et des Crucifères (TEMPLETON et col. 1967; MEYER et col. 1974). *A. mali* Roberts, qui est à l'origine du «blotch» du Pommier, produit de l'alternariolide qui serait un depsipeptide (OKUNO et col. 1974; UENO et coll. 1975). Tout récemment GILCHRIST & GROGAN (1974, 1976) ont montré que certaines souches de l'*A. alternata* f. *lycopersici* produisent de façon continue une toxine capable d'induire sur la tomate les mêmes symptômes maladifs que ceux observés en nature, sauf cependant l'apparition de formation chancreuses profondes sur les tiges qui n'a lieu qu'en présence du champignon.

Les observations qui précèdent mettent ainsi en évidence la biologie très particulière de l'*Alternaria linicola*. Ce champignon est fréquent à la surface des graines de lin sous forme de spores libres ou se situe, à l'état de mycélium, issu de la germination des spores, dans la couche mucilagineuse. Il y demeure à l'état latent. Il ne nuit pas à la vitalité de la semence et ne trouble que de façon insensible le processus de la germination de la graine. Par contre, il se développe activement au cours de la croissance de la plantule et se comporte alors en parasite très dommageable, exerçant à la fois des actions mécaniques liées à la progression endophytique du mycélium et des actions biochimiques en relation avec la production d'une toxine fongique. Ces deux actions sont concomitantes mais se réalisent selon des sites indépendants.

Source : MNHN, Paris

Il est à noter enfin que le comportement de l'*Alternaria linicola* à l'égard des jeunes plantules de lin n'est qu'un exemple parmi d'autres. PONCHET (1960), après MACHACEK (1945), décrit des symptômes de nécrose du coléoptile de blé dont la semence est infectée par le *Septoria nodorum* Berk. (forme conidienne du *Leptosphaeria nodorum* Muller) à l'état de pycnides disposées dans le péricarpe du caryopse. De études récentes, réalisées à partir de filtrats de culture de ce *Septoria* ont mis en évidence une phytotoxine qui, à faible dose, incite à la croissance des racines, et à concentration plus forte inhibe le développement des plantules (BOUSQUET & SKAJENNIKOFF 1974). Le *Fusarium nivale* (Fr.) Ces., dont le stade ascosporé est *Micronectriella nivalis* (Schaffn.) Booth, attaque de nombreuses Graminées; il réduit la croissance du coléoptile du blé, provoquant sur toute la longueur de cet organe l'apparition de stries nécrotiques sous forme de griffures longitudinales.

CONCLUSIONS

En tenant compte de certaines caractéristiques d'ordre biologique, des analyses de la spermoflore fongique des caryopses de blé et d'orge, ou des graines de lin, permettent de distinguer :

1. – des espèces se comportant ordinairement en saprophytes, mais pouvant intervenir fortuitement, au détriment de la semence, à la faveur de conditions ambiantes favorables (humidité excessive, altérations d'ordre tégumentaire, etc. .). Ce sont les «moisissures» des semences.

2. – des espèces disposées fortuitement, sous forme de spores ou d'articles mycéliens à la surface de la semence, dont le comportement, jusqu'alors saprophytique et sans effets préjudiciables, se modifie en une fonction parasitaire au-delà de la période de germination de la semence. L'*Alternaria linicola* des graines de lin appartient à ce groupe. Les actions d'ordre mécanique et biochimique (production d'une vivotoxine) de ce champignon ont été mises en évidence.

3 – des espèces parasites qui sont à la fois constitutives de la phylloflore et de la spermoflore. Quelques représentants de ce groupe tels que des Urédinales, persistent sous la forme de conceptacles sporogènes mais n'ont pas de conséquences ultérieures du point de vue parasitaire.

D'autres espèces, établies sur la semence dans des conceptacles fertiles, ou en stroma, ou incluses dans les téguments à l'état de mycélium ou de spore de conservation, persistent sur la semence stockée. Elles interviennent ensuite activement au-delà de la germination en entraînant une diminution notable du nombre de plantules viables. C'est ainsi que se comportent plusieurs espèces de *Peronospora, Plasmopara, Ascochyta, Septoria, Phoma, Colletotrichum, Fusarium*.

4. – des espèces dont le développement organotropique est l'achèvement

Source : MNHN, Paris

d'une phase d'infection généralisée à toute la plante. C'est le cas des *Tilletia* et de certains *Ustilago*.

(Travaux du Laboratoire de Pathologie végétale de l'Institut National agronomique PARIS-GRIGNON)

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BATTS C.C.V., 1955 — Infection of Wheat by loose smut *Ustilago tritici* (Pers.) Rostr. *Nature*, 175 : 467-468.

BOUSQUET J.F. & SKAJENNIKOFF M., 1974 — Isolement et mode d'action d'une phytotoxine produite en culture par *Septoria nodorum* Berk. *Phytopath. Z* 80 : 355-360.

BRIAN P.W., CURTISS P.J., HEMMING H.G., UNWIN C.H. & WRIGHT J.M., 1949 — Alternaric acid, a biological active metabolic product of the fungus *Alternaria solani*. *Nature* 164 : 534-535.

CHARLTON M., 1953 — The sporulation of *Alternaria solani* in culture. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 36 : 349-355.

COME D., 1968 — Problèmes de terminologie, posés par la germination et ses obstacles. *Bull. Soc. Franç. Physiol. végét.* 14 : 3-9.

COME D., 1970 — Les obstacles à la germination (*Monographie de Physiologie végétale* n° 6), 162 p., Masson éd., Paris.

COME D., 1975 — Quelques problèmes de terminologie concernant les semences et leur germination, in CHAUSSAT R. & LE DEUNF Y. : La germination des semences, Gauthier-Villars éd., Paris.

DARPOUX H., FAIVRE-AMIOT A., RIDE M. & ROUX L., 1972 — Étude des propriétés antagonistes et de quelques produits du métabolisme d'une souche d'*Alternaria solani* (E. & M.) Jones et Grout. *Ann. Inst. nat. Recherche Agron.* 4 : 423-487.

DJERBI M., 1970 — Étude écologique et histologique des actions parasitaires des espèces fusariennes à l'égard du blé. Thèse Fac. Sc. Paris, 114 p.

ERIKSSON J., 1901 — Sur l'origine et la propagation de la rouille des Céréales par la semence (traduct. française par Mlle S. Eriksson). *Ann. Sc. Nat. Bot.*, série 8, 15 : 1-160.

ERIKSSON J., 1910 — Ueber die Mykoplasmatheorie, ihre Geschichte und ihre Tagesstand. *Biol. Centralbl.* 30 : 618-623.

ERIKSSON J., 1914 — Les maladies cryptogamiques des plantes agricoles et leur traitement. Lib. Maison rustique, 254 p.

EVENARI M., 1957 — Les problèmes physiologiques de la germination. *Bull. Soc. Franç. Physiolog. vég.* 3 : 105-124.

FUTTREL M.C., 1972 — New concepts in chemical seed treatment of agronomic crops. *J. Environm. quality* 1 : 240-243.

GILCHRIST D.G. & GROGAN R.G., 1974 — A phytotoxin produced by an *Alternaria* sp. pathogenic on tomato. *66th Ann. meeting American Phytopathological Soc.*, Vancouver, Canada, Abstr. n° 64.

GILCHRIST D.G. & GROGAN R.G., 1976 — Production and nature of a host-specific toxin from *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathology* 66 : 165-171.

Source : MNHN, Paris

HARMAN G. E., PFLEGER F. L. & BRAVERMAN S. W., 1973 — Growth of *Puccinia antirrhini* in imbibed snapdragon seeds. *Pl. disease Rep.* 57 : 709-710.

HARMAN G. E. & PFLEGER F. L., 1974 — Pathogenicity and infection sites of *Aspergillus* species in stored seeds. *Phytopathology* 64 : 1339-1343.

HIROE I., AOE S., 1954 — Phytopathological studies on black spot disease of Japanese pear caused by *Alternaria kikuchiana*. Pathochemical studies, I - on a new phytotoxin, phytoalterin produced by the fungus. *J. Fac. Agric. Tottori Univ.* II : 1-26.

JOLY P., 1964 — Le genre *Alternaria*. 250 p., Ed. P. Lechevalier, Paris.

KLEBAHN H., 1899 — Kulturversuche mit heteroecischen Rostpilzen, VII. *Zeits. Pflanzenkht* 9 : 14-26.

LEACH C. M., 1964 — The relationships of visible and ultraviolet light to sporulation of *Alternaria chrysanthemi*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 47 : 333-344.

LEDUC Agnès, 1958 — Sur les micromycètes de la flore fongique des graines de lin. *Rev. Gen. Bot.* 65 : 541-580.

LOCKE T., COLHOUN J., 1973 — *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* as a seed-borne pathogen. *Trans. Brit. Soc. mycol.* 60 : 594-595.

MACHACEK J. E., 1945 — The prevalence of *Septoria* on cereal seed in Canada. *Phytopathology* 35 : 51-53.

MEYER W. L., KUYPER L. F., LEWIS R. B., TEMPLETON G. E. & WOODHEAD S. H., 1974 — The amino acid sequence and configuration of tentoxin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 56 : 234-240.

MUSKETT A. E. & MALONE J. P., 1941 — The Ulster method for the examination of flax seed for the presence of seed-borne parasites. *Ann. appl. Biol.* 28 : 8-13.

OKUNO T., ISHITA Y., SAWAI K. & MATSUMOTO T., 1974 — Characterization of Alternariolide a host-specific toxin produced by *Alternaria mali* Roberts. *Chem. Lett.* 6 : 635-638.

PELHATE J., 1968 — Étude expérimentale des interactions de moisissures caractéristiques des grains. *Revue de Mycologie* 33 : 43-70.

PONCHET J., 1960 — La détection des parasites transmis par les semences de blé. *C. R. Assoc. Intern. Essais semences.* 25 : 539-553.

PONCHET J., 1966 — Étude des communautés mycopéricarpiques du caryopse du blé. Thèse Fac. Sci. Paris, 115 p.

POUND G. S. & STAHMANN M. A., 1951 — The production of a toxic material by *Alternaria solani* and its relation to the early blight disease of tomato. *Phytopathology* 41 : 1104-1114.

RIBEIRO R. de L. D., 1972 — Sobe a infeccao de sementes de beringela par isoladas de *Verticillium dahliae* Klebahn. *Arq. Univ. Fed. rur. Rio de Janeiro*, 2 : 17-20.

SATHE A. V., 1972 — Moucheture du blé. *Bull. phytosanit.* FAO 20 : 9-11.

SPEK Van der, 1972 — Internal carriage of *Verticillium dahliae* by seeds and its consequences. *Meded. Fakult. Landbow - Wetenschappen*, Gent. 37 : 567-573.

STAMPLI Ruth., 1910 — Untersuchungen über die Deformationem, welche bei einigen Pflanzen durch Uredineen hervorgerufen werden. *Hedwigia* 49 : 230-267.

TEMPLETON G. E., 1972 — *Alternaria* toxins related to pathogenesis in plants, in S. KADIS, A. CIEGLER & S. J. AJL, *Microbial toxins* 8 : 169-192, Academic Press.

TEMPLETON G. E., GRABLE C. I., FULTON N. D., BOLLENBACHER K., 1967 — Factors affecting the amount and pattern of chlorosis caused by a metabolite of *Alternaria tenuis*. *Phytopathology* 57 : 516-518.

UENO T., HAYASHI Y., NAKASHIMA T., FUKAMI D., NISHIMURA S. KOHMOTO K. & SEKIGUCHI A., 1975 — Isolation of AM-Toxin I, a new phytotoxic metabolite from *Alternaria mali*. *Phytopathology* 65 : 82-83.

Source : MNHN, Paris

VIENNOT-BOURGIN G., 1935 — *Ustilago tritici* (Pers.) Jens. sur les feuilles de blé. *Rev. Pathol. vég. et d'Entom. agric.* 22 :181-199.

VIENNOT-BOURGIN G., 1965 — Contribution à la connaissance des agents pathogènes des organes floraux des fruits et des semences. *Ann. Inst. national agronomique* 3 : 1-65.

WILLIAMS L. E. & WILLIS G. M., 1962 — Agar ring method for in vitro studies of fungistatic activity. *Phytopathology* 52 : 368-369.

WOLF F. A., 1913 — Internal aecia. *Mycologia* 5 : 303-304.

ZAD S. D., 1975 — Recherches sur la mycoflore des semences de lin. Thèse Fac. Sc. Nancy, 131 p.

Source : MNHN, Paris

INFLUENCE DES FACTEURS TROPHIQUES SUR LA CROISSANCE ET L'OBTENTION DES MORPHOGENESES REPRODUCTRICES IN VITRO de GNOMONIA LEPTOSTYLA (Fr.) Ces. et de Not.

par J. FAYRET *

RÉSUMÉ. — L'étude de l'influence des facteurs trophiques sur le développement du champignon Pyrénomycète *Gnomonia leptostyla* a permis d'élaborer un milieu cultural de composition chimique parfaitement définie qui assure à la fois une bonne croissance mycélienne et la différenciation de toutes les formes reproductrices. Les variations du milieu minéral, la nature et la concentration des sources carbonées et azotées, les apports vitaminiques et le pH du milieu cultural interviennent sur le développement végétatif, la conidiogenèse, la différenciation et la maturation des périthèces, cette dernière restant toujours tributaire de basses températures (10°C). Il est ainsi apparu une thiamino-hétérotrophie et un effet morphogène spécifique avec certaines sources carbonées. Si la lumière agit toujours comme facteur conidiogène et antipérithécial, certains acides organiques (acétate, succinate) ont une action analogue sur la morphogenèse reproductrice des thalles.

SUMMARY. — A well define chemical medium, which permits good mycelial growth and complete differentiation of all the reproductive structures, has been elaborated for the Pyrenomycete *Gnomonia leptostyla*. Trophic factors like mineral medium, carbon and nitrogen source and concentration, vitamins and pH influence the vegetative development, conidiogenesis as well as the perithecial differentiation and maturation. This latter always remains associated with low temperatures (10°C). The study of vitaminic needs reveals a thiamino-heterotrophy; some carbonated sources have a specific morphogenous action. Light always acts as conidiogenous and anti-perithecial factor, and, in the dark, certain organic acids (acetate, succinate) can play the same role.

INTRODUCTION

Sur des milieux culturaux variés et notamment sur le milieu à la farine d'avoine, le *Gnomonia leptostyla*, champignon Pyrénomycète de l'ordre des Diaporthales, agent de l'anthracnose du noyer, peut différencier toutes les

* Laboratoire de Cryptogamie, Université Paul Sabatier, 118 route de Narbonne, 31077 Toulouse Cedex.

Source : MNHN, Paris

formes de multiplication qui caractérisent son cycle biologique : acervules à macroconidies (forme *Marssonina*), acervules à microconidies (forme *Leptothyrium*) et périthèces (FAYRET 1967 a). Avec ces substrats nutritifs, la température et l'éclairement sont apparus des facteurs décisifs pour obtenir in vitro les différents organes reproducteurs (FAYRET 1967 b). C'est ainsi que la lumière exerce une action conidiogène (macro et microconidies) et antipérithéciale alors que les basses températures (10°C) sont inductrices de la microconidiogenèse et nécessaires au complet développement du sporophyte intrapérithécial, conduisant ainsi à l'obtention d'ascocarpes fertiles. Ces possibilités morphogènes font de *G. leptostyla* un modèle expérimental particulièrement intéressant.

Après avoir démontré l'action de la lumière et de la température sur des cultures avec le milieu farine d'avoine gélosé, milieu naturel complexe, je me suis proposé de rechercher l'influence des facteurs du milieu nutritif sur le développement végétatif et surtout sur la différenciation des différentes formes reproductrices.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les souches qui ont été utilisées pour cette étude proviennent d'isolements monoascospores réalisés au micromanipulateur de Fonbrune. *G. leptostyla* étant une espèce hétérothallique (FAYRET 1970), les récipients de culture (fioles de Roux de 1 l renfermant 100 ml de milieu cultural) sont inoculés avec 1 ml de suspension de macroconidies (2.10^6 spores/ml en moyenne), provenant à parties égales de précultures de souches complémentaires A et a. Les précultures conidiogènes se développent à 20°C, sous régime héméropériodique de 12 h, pendant 3 semaines.

Après inoculation et maintien pendant une semaine à 20°C à l'obscurité, dans le but de favoriser un bon développement mycélien initial, les fioles sont réparties dans des enceintes climatisées et soumises à des conditions de température et d'éclairement qui, en milieu farine d'avoine gélosé, permettent d'orienter sélectivement les cultures vers des morphogenèses bien définies (FAYRET 1967 b) (tableau 1) :

Tableau 1. — Morphogenèses reproductrices en milieu farine d'avoine gélosé, dans différentes conditions culturales.

Conditions culturales	Morphogenèse reproductrice
20° lumière	macroconidies
20° obscurité	périthèces abortifs
10° obscurité	périthèces fertiles

Pour les cultures faites à la lumière, un éclairement de 350 à 600 μW/cm^2 au niveau des cultures est fourni par des tubes fluorescents «lumière du jour

Source : MNHN, Paris

de luxe». La lumière continue a été préférée aux éclairements héméropériodiques, car elle correspond à l'optimum d'induction conidienne et d'inhibition périthéciale (FAYRET 1974).

La croissance, appréciée par le poids de matière sèche par unité culturale (moyenne de 3 cultures identiques au minimum), a été mesurée au 21e jour de culture à 20°C; elle a été suivie par récoltes répétées au cours de l'évolution des thalles à 10°C obscurité. A cette dernière température, les périthèces peuvent poursuivre, après leur différenciation morphologique, une maturation complète au cours de laquelle le sporophyte évolue lentement jusqu'à son stade ultime : la différenciation des asques ascosporés. La lenteur de ces processus de maturation (plus d'un mois sur le milieu farine d'avoine gélosé) impliquait une observation prolongée des cultures à basse température. L'évolution pondérale a alors également été suivie sur une longue période.

Pour des raisons matérielles, je n'ai pas réalisé de cultures à 10°C et à la lumière, conditions particulièrement favorables à la microconidiogenèse (FAYRET 1967 b), malgré leur intérêt éventuel.

M'inspirant des travaux de MORQUER (1931) et de LACOSTE (1965), j'ai choisi, au départ, le milieu de base suivant, qui renferme pour 1 l d'eau bidistillée : KH_2PO_4 : 0,8 g; $Ca(PO_4H_2)_2$: 0,2 g; $MgSO_4, 7H_2O$: 0,5 g; $MnSO_4, 5H_2O$: 0,01 g; $ZnSO_4, 7H_2O$: 0,01 g; $CuSO_4, 5H_2O$: 0,005 g; $FeSO_4, 7H_2O$: 0,001 g.

A ce milieu minéral sont ajoutés :
- comme source carbonée : le glucose à raison de 5g/l;
- comme source azotée : l'acide L. aspartique, à la concentration de 0,475 g/l, soit 0,05 g d'azote/l;
- des vitamines : la thiamine et la biotine, à raison respectivement de 100 et 5 µg/l.

Concentration en sels minéraux	20°C Lumière continue			20°C Obscurité			10°C Obscurité		
	Croissance (en mg)	Conidiogenèse	Périthèces	Croissance (en mg)	Conidiogenèse	Périthèces	Périthèces	Asques au 60ème jour	Asques au 75ème jour
2 M(1)	175	++++	0	202	rare	++++			
1 M	166	++++	0	201	très rare	++++	++++	assez abondants	très abondants
1/2 M	160	++++	0	194	très rare	++++	++++	assez abondants	très abondants
1/4 M	167	++++	0	197	très rare	++++	++++	rares	assez abondants
1/8 M	130	+++	0	154	très rare	+	+	0	rares

(1) M désigne la teneur globale du milieu de base en sels minéraux.

Tableau 2. — Influence de la concentration du milieu en sels minéraux sur la croissance, la conidiogenèse, la différenciation et la maturation des périthèces. La croissance, à 20°C, est mesurée au 21ème jour, par le poids de matière sèche en mg par unité culturale. L'intensité de chaque morphogenèse reproductrice appréciée, au 21ème jour à 20°C, au bout de 2 mois à 10°C, est proportionnelle au nombre de croix : + faible, ++ assez abondant, +++ abondant, ++++ très abondant.

Source : MNHN, Paris

Le milieu à la farine d'avoine ayant un pH voisin de 6, cette valeur a été retenue pour le milieu synthétique initial.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I. VARIATIONS DE LA CONCENTRATION EN SELS MINÉRAUX

M désignant la composition en sels minéraux du milieu de base, les concentrations suivantes ont été utilisées : 2M, M, M/2, M/4, M/8. Le développement pondéral (tab. 2 et fig. 1) n'est affecté de façon sensible, à 20°C comme à 10°C, que pour la dilution extrême du milieu minéral (M/8), montrant ainsi des besoins peu élevés en sels minéraux. Avec cette même dilution, à 10°C, la croissance est ralentie et la phase de déclin du poids des cultures, qui accompagne la période de maturation aux autres concentrations du milieu minéral, ne se manifeste plus. Ce n'est qu'avec cette dilution au huitième que les morphogenèses reproductrices, toujours influencées de la même manière par la lumière ou l'obscurité, subissent des variations quantitatives appréciables, mais l'aptitude à former des périthèces est plus sensible que la conidiogenèse à une

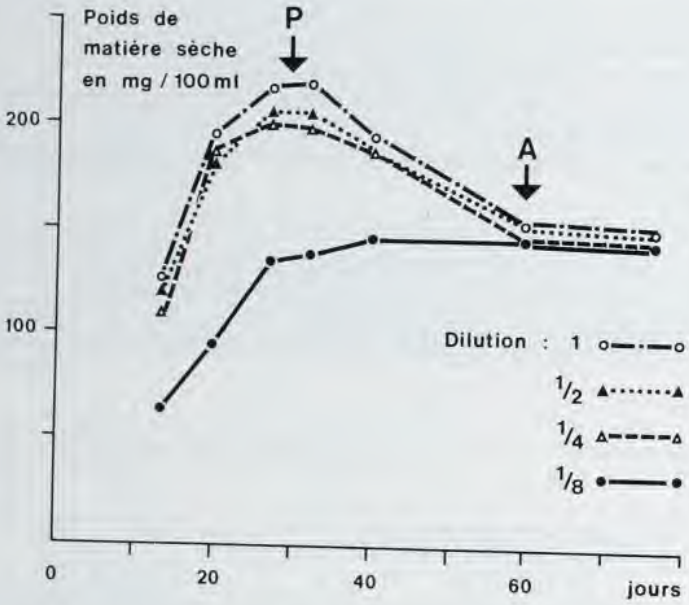


Fig. 1. — Influence de la dilution du milieu minéral sur l'évolution pondérale des cultures placées à 10°C, à compter du 10ème jour, et à l'obscurité continue. — P : apparition des périthèces visibles à l'oeil nu; A : apparition des asques dans les périthèces.

Source : MNHN, Paris

faible teneur en sels minéraux. A 10°C, la dilution du quart diminue déjà le nombre des fructifications sexuées et retarde leur maturation (tab. 2); avec la dilution au huitième, les quelques ascocarpes qui peuvent se différencier sont très affectés dans leur maturation : une majorité d'entre eux reste immature, et, dans les autres, peu d'asques apparaissent.

Il ressort de ces résultats que le milieu minéral de base, à la concentration initialement choisie, fournit en quantités largement suffisantes, mais sans excès, les éléments minéraux nécessaires à la croissance mycélienne et aux différentes formes de reproduction. Cette composition du milieu minéral de base sera donc conservée.

II. ÉTUDE DE LA NUTRITION CARBONÉE

1) Influence de la nature de la source carbonée

Tous les glucides éprouvés (les oses sont fournis sous la forme D) sont ajoutés au milieu nutritif à la concentration de 5g/l.

Source carbonée	20°C Lumière continue			20°C Obscurité			10°C Obscurité	
	Croissance (en mg)	Conidio-genèse	Ebauches de périthèces	Croissance (en mg)	Conidio-genèse	Ebauches de périthèces	Périthèces	Asques (maturation)
arabinose	8	0	0	8	0	0	-	-
xylose	8	0	0	8	0	0	-	-
ribose	34	+++++	0	38	+++	++	rares(2)	variable
rhamnose	7	0	0	6	0	0	-	-
glucose	166	++++	très rare	185	rare	++++	++++	abondants
galactose	19	0	0	20	0	0	-	-
mannose	10	0	0	8	0	0	-	-
fructose	125	+++++	rares	150	rare	+++++	++++	abondants
sorbose	10	0	0	10	0	0	-	-
mannitol	124	+++	très rares	120	0	++++	+++	0
maltose	120	rare	0	132	0	0	+++	très rares
cellobiose	179	++++	rares	191	rare	++++	++++	variable
tréhalose	132	+++++	++ (1)	148	+	++	+++	variable
saccharose	174	++++	++ (1)	189	rare	++++	++++	variable
lactose	118	+++++	+	132	+	+++	+	0
raffinose	127	+++++	+	137	++	++	+++	abondants
dextrines	121	+	0	137	rare	0	++	très rares
amidon soluble	91	++	0	102	très rare	0	+	très rares

(1) ébauches de périthèces réduites à de petits glomérules.
(2) dans ces cultures, présence de conidies et surtout de très abondantes spermaties.

Tableau 3. — Influence de la nature de la source carbonée. 1) sur la croissance et les morphogenèses reproductrices après 21 jours de culture à 20°C, à la lumière continue ou à l'obscurité. 2) sur la différenciation et la maturation des périthèces après 2 mois de culture à 10°C, à l'obscurité.

Source : MNHN, Paris

De l'examen du tableau 3, on peut dégager les observations suivantes :

– Avec tous les glucides qui permettent un bon développement végétatif, l'éclairement diminue les rendements en matière sèche, induit ou stimule fortement la conidiogenèse, inhibe à des degrés divers la formation des périthèces, par rapport aux témoins placés à l'obscurité.

– Les pentoses ne sont que très faiblement métabolisés par *G. leptostyla*. Il est à noter que le xylose ne donne lieu pratiquement à aucun développement, contrairement à ce qui a été observé pour *Gnomonia fructicola* (BOLAY 1972), et surtout pour *Gaeumannomyces graminis* (GINDRAT 1966), en se limitant aux Gnomoniacées déjà cultivées in vitro. L'influence conidiogène de ce glucide a, en outre, été soulignée pour *Neurospora crassa* (TURIAN & MATIKIAN 1966). Ici, c'est avec le ribose que nous observons une action morphogène comparable, avec cependant une croissance végétative limitée. En présence de ce sucre, la sporulation est toujours nettement photostimulée, mais elle apparaît active même à l'obscurité. Cette action positive des pentoses sur la différenciation conidienne a été mise en relation avec une stimulation de la voie des hexoses monophosphates et une synthèse accrue d'ARN (TURIAN 1970). A la conidiogenèse induite par le ribose, est associée une répression du développement des périthèces qui sont toujours peu nombreux et atteignent rarement le stade adulte à 10°C. Un effet contraire du ribose sur la morphogenèse a été signalé par QURESHI & PAGE (1972), avec *Nectria haematococca* et *Hypomyces solani*, pour lesquels ce glucide est la source de carbone la plus favorable à la formation des périthèces, mais ces auteurs ne signalent pas ses effets au niveau de la conidiogenèse.

– Parmi les hexoses, le glucose et le fructose ont un effet morphogène similaire, bien que le glucose soit plus favorable à la croissance mycélienne. La forme conidienne à la lumière, ou la forme parfaite à l'obscurité, apparaissent dans chaque cas avec autant d'intensité; ces oses exercent aussi une action bénéfique comparable sur la maturation des ascocarpes. Par contre, le galactose, le mannose et le sorbose sont très défavorables au développement végétatif et à toute forme de reproduction. L'effet inhibiteur du sorbose sur la croissance des champignons est bien connu, qu'il soit incorporé seul au milieu nutritif ou même ajouté à d'autres sources de carbone (BARNETT & LILLY 1951).

– Les diholosides ou polyholosides permettent une croissance végétative convenable, bien qu'à des degrés divers. Vis à vis de la morphogenèse, deux cas peuvent se présenter :

- la conidiogenèse est très intense dans les cultures éclairées, avec le saccharose, le cellobiose, le tréhalose, le lactose, le raffinose, mais la suppression de la morphogenèse périthéciale est alors moins complète qu'avec les hexoses.

- la conidiogenèse est réduite, même sous éclairement continu, avec le maltose, les dextrines et l'amidon soluble. A l'obscurité à 20° C, étant donné l'absence d'ébauches de périthèces, le développement est purement végétatif. Si des périthèces peuvent se différencier avec les mêmes glucides à 10°C, c'est leur maturation qui est affectée. Ces résultats paraissent surprenants si on les

Source : MNHN, Paris

compare à ceux que l'on a enregistrés avec la farine d'avoine qui, en dépit d'une forte teneur en amidon, s'est montrée propice à la formation de toutes les structures reproductrices (FAYRET 1967b). L'action bénéfique de ce dernier milieu est peut-être due à la présence de sucres simples en petites quantités.

2) Influence de la concentration de la source carbonée

Le glucose s'étant révélé, au cours des expériences précédentes, une source de carbone particulièrement favorable à la fois à la croissance mycélienne, à la conidiogenèse, à la différenciation et à la maturation des périthèces, il a été retenu comme substrat pour l'étude de l'influence de la concentration en carbone. Il est apporté dans le milieu cultural aux concentrations de 1, 2, 5, 10 et 20 g/l.

– En accord avec les travaux de HAWKER (1957), qui ont montré, chez plusieurs Ascomycètes, que l'élévation des concentrations en hydrates de carbone jusqu'à 10% stimulait la croissance, l'augmentation de la concentration en substance carbonée stimule le développement végétatif de *G. leptostyla* (fig. 2 et 3). A partir de 5g/l de glucose, la vitesse de croissance reste sensiblement constante mais l'accroissement pondéral se poursuit plus longtemps

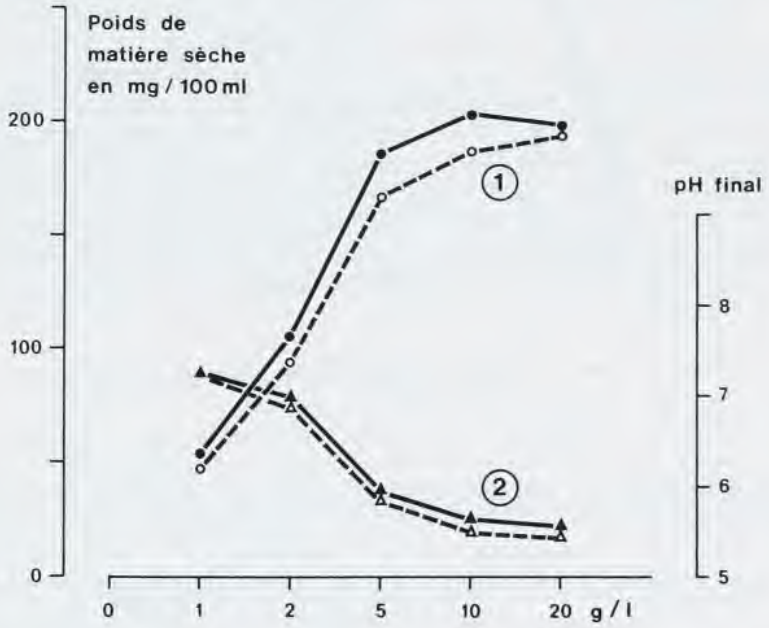


Fig. 2. – Influence des concentrations en glucose sur le rendement en matière sèche ① et le pH final ② après 21 jours de culture à 20°C, à l'obscurité (——) ou en lumière continue (- - -).

Source : MNHN, Paris

(fig. 3); ainsi, avec 20g/l de glucose, l'optimum de croissance n'est pas encore atteint au 76e jour à 10°C.

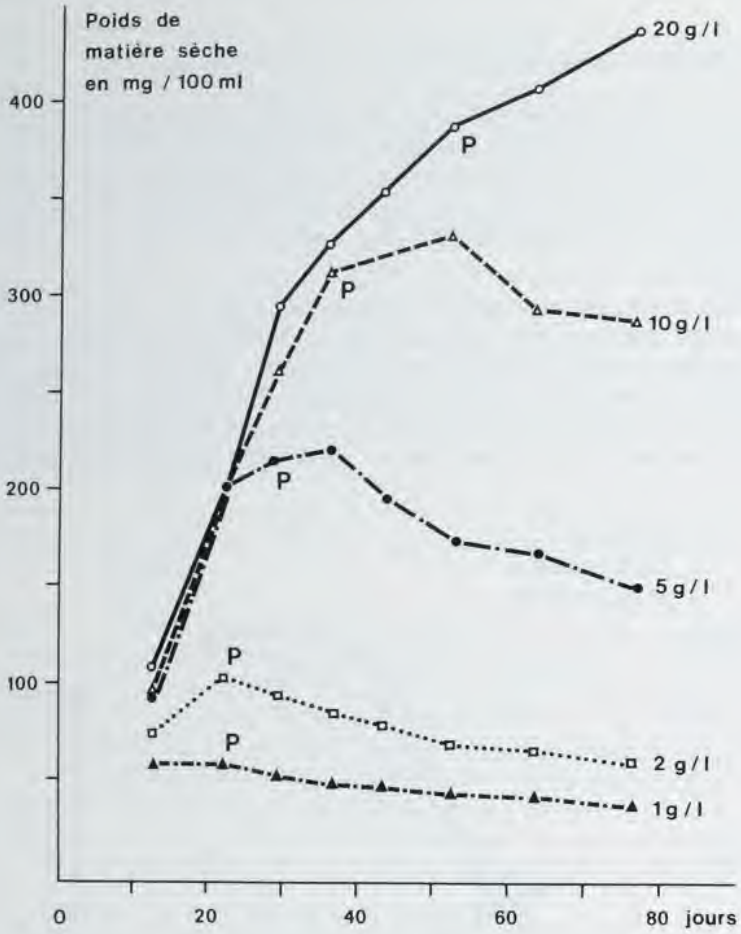


Fig. 3. – Influence des concentrations en glucose sur l'évolution pondérale des cultures, à 10°C et à l'obscurité. – P : apparition des périthèces visibles à l'oeil nu.

– L'effet stimulant de la lumière (tab. 4) sur la conidiogenèse se manifeste à toutes les concentrations, l'intensité de celle-ci croît avec la concentration en glucose jusqu'à 5g/l, en même temps que le développement végétatif. BOLAY (1972) a aussi noté, chez *Gnomonia fructicola*, que l'accroissement du nombre des pycnides suit la progression du poids du mycélium, confirmant les observations de LEONIAN (1924) chez plusieurs Sphaeropsidales.

Source : MNHN, Paris

Glucose	20°C Lum. continue		20°C Obscurité		10°C Obscurité		
g/l	Conidio-genèse	Ebauches de périthèces	Conidio-genèse	Ebauches de périthèces	Périthèces	Asques (maturation) au 60ème jour	au 75ème jour
1	++	-	très rare	+	++	abondants	abondants
2	+++	rares	très rare	++++	++++	abondants	abondants
5	++++	très rares	très rare	++++	++++	abondants	abondants
10	++++	très rares	rare	+++	++	très rares	variable (*)
20	+++	très rares	rare	++	+	0	0

(*) souvent immatures

Tableau 4. — Influence de la concentration de la source carbonée 1) sur les morphogenèses reproductrices après 21 jours de culture à 20°C, à la lumière continue ou à l'obscurité. 2) sur la différenciation et la maturation des périthèces après 2 mois de culture à 10°C, à l'obscurité.

– En ce qui concerne la morphogenèse sexuée, toujours photoinhibée, une quantité minimale de glucose est requise pour que les périthèces se forment en abondance. Mais quand la concentration s'élève au-delà de 5g/l, qui correspond à la valeur optimale, leur apparition (fig. 3) et leur maturation (tab. 4) sont retardées et leur nombre diminue rapidement (tab. 4). On peut voir là une nouvelle illustration des principes généraux de KLEBS (1898), selon lesquels un apport limité d'éléments nutritifs, et principalement de substances carbonées, favorise la reproduction sexuée. En effet, les travaux de HAWKER (1939 a et b, 1951), HAWKER & CHAUDHURI (1946), BRETZLOFF (1954), HALL (1971) sur *Sordaria fimicola*, ont montré que les fructifications sexuées sont précoces et abondantes avec de faibles teneurs en hydrates de carbone. Selon Mc ONIE & SNYDER (1966 b), la concentration de 0,5% de glucose est également optimale pour *Gnomonia fructicola*. Pour ce dernier champignon, comme pour *G. leptostyla*, avec des concentrations supérieures, peu de périthèces parviennent à se différencier jusqu'au stade adulte et leur maturation est inhibée.

3) Influence de l'addition d'acides organiques

Des acides organiques, sous forme de sels de sodium, ont été ajoutés au milieu cultural de base, dans lequel l'acide aspartique a été remplacé par le mélange alanine-sérine. Les acides organiques qui ont été expérimentés (acétate, citrate, malate, succinate) ont été choisis en fonction de leur action sur la croissance et sur la sporulation d'autres champignons (COCHRANE 1958, TURIAN 1969). Après addition des acides organiques, le pH du milieu cultural a été ramené à 6 avant l'ensemencement.

a. Action de l'acétate

Si, d'une façon générale, l'addition de cet acide (tab. 5) ne modifie que dans de faibles proportions la croissance mycélienne, on peut cependant noter,

Source : MNHN, Paris

% Acétate	20°C.						10° Obscurité	
	Croissance		Conidiogenèse (1)		Ebauches de périthèces		Conidiogenèse(1)	Périthèces
	Obscurité	Lumière	Obscurité	Lumière	Obscurité	Lumière		
0 %	194 mg	173 mg	faible	+++	++++	-	-	++++
0,1 %	200 mg	168 mg	+	+++	++++	-	-	++++
0,5 %	215 mg	191 mg	+++	+++++	-	-	+++	-
1 %	162 mg	180 mg	faible	++	-	-	+	-

(1) nette prédominance des macroconidies à 20°, des microconidies à 10°.

Tableau 5. — Effets de l'addition d'acétate de Na (milieu glucose-alanine-sérine) sur la croissance et les morphogenèses reproductrices. Résultats au 21ème jour à 20°C, au 30ème jour à 10°C.

en incorporant 0,5% d'acétate, une stimulation du développement végétatif, aussi bien à l'obscurité qu'à la lumière. L'utilisation de l'acétate provoque une libération d'ions Na+ qui entraîne une élévation du pH du milieu nutritif. Au 21ème jour de culture, le pH atteint 7,6 avec 0,5% et 7,9 avec 1% d'acétate. Mais ces variations ne paraissent pas perturber de façon très sensible le développement mycélien.

L'effet conidiogène de l'acétate, à raison de 0,5%, est particulièrement net. Cette concentration permet, non seulement une stimulation de la conidiogenèse dans les cultures éclairées, mais l'induit de façon très remarquable à l'obscurité, aussi bien à 10°C (microconidiogenèse) qu'à 20°C (macroconidiogenèse). L'acétate exerce alors sur la morphogenèse un effet analogue à celui de la lumière. Cet effet est d'autant plus comparable que cette induction conidiogène, dans les cultures à l'obscurité, s'accompagne d'une inhibition de la morphogenèse périthéciale. Toutefois, l'observation microscopique des thalles montre que l'initiation des ascogones spiralés, première manifestation de la morphogenèse sexuée, n'est pas inhibée par l'acétate, mais l'enroulement des filaments polarisés dans le sens femelle s'effectue fréquemment en décrivant des tours de spire très lâches, qui ressemblent alors aux hyphes «en lasso», ou «pseudo-ascogones» abortives, décrites par GINDRAT & TURIAN (1967) dans les cultures à l'obscurité de *Gaeumannomyces graminis*, ou dans celles de *Neurospora crassa*, en milieu mycélien ammoniacal.

L'action stimulante de l'acétate sur la conidiogenèse a été bien établie chez *Neurospora crassa* (TURIAN 1961 a et b, KOBR et al. 1965). Il en est de même de son effet répresseur sur la différenciation des périthèces de *Neurospora tetrasperma* (TURIAN & VISWANATH-REDDY 1971) et de *Leptosphaeria typhae* (VIALA & VIDAL, 1972). Avec *Neurospora tetrasperma*, en présence d'acétate, l'inhibition, comme chez *G. leptostyla*, ne se manifeste qu'après la formation des ascogones spiralés qui ont des exigences moins strictes que les protopérithèces, stade ultérieur de la morphogenèse sexuée (VISWANATH-REDDY 1972). Nous connaissons, d'autre part, l'effet inducteur de

Source : MNHN, Paris

l'acétate sur la voie du cycle glyoxylique au détriment de celle, plus oxydative, du cycle citrique (TURIAN 1961 a; FLAVELL & FINCHAM 1968 a et b; VIALA 1972). Il y a là une première indication sur les activités métaboliques différentielles susceptibles d'être associées aux processus morphogènes conduisant chez *G. leptostyla*, soit à la production des conidies (en présence d'acétate ou de lumière), soit, inversement, à celle des périthèces.

b. Action des acides citrique, malique et succinique

L'incorporation de ces acides au milieu de culture (tab. 6), à la concentration de 10^{-2}M, ne modifie guère les rendements en matière sèche mais, avec une concentration de 5.10^{-2}M, seul le succinate permet une croissance normale. Les autres acides provoquent alors une augmentation de la septation des hyphes, avec formation d'articles vésiculeux. Aux concentrations qui conduisent à un bon développement mycélien, on note une activation de la conidiogenèse, mais à des degrés divers. De faible amplitude avec le citrate et le malate, cette stimulation est, par contre, très accentuée en présence de succinate où, même à l'obscurité, les cultures deviennent conidiogènes. Une action favorable de ces acides sur la production des conidies a été observée chez *Neurospora crassa*, soit avec des souches sauvages (TURIAN 1964), soit avec des mutants morphologiques (DICKER et al., 1969), ainsi que chez *Gibberella zeae*, où le citrate s'est révélé particulièrement actif (BONN et CAPELLINI 1970).

Acides organiques (sels de Na)	20°C						10°C obscurité		
	Croissance (en mg)		Conidiogenèse		Ebauches de périthèces		Périthèces	% de maturation	Ebauches de périthèces et protopérithèces
	obscurité	lumière	obscurité	lumière	obscurité	lumière			
Citrate 5.10^{-2} M	39	59	0	0	0	0	0	–	0
10^{-2} M	164	166	0	++++	0	0	0	–	++++
Succinate 5.10^{-2} M	185	168	++	+++++	++++	0	0	–	+++
10^{-2} M	198	182	++	++++	++++	rares	+++	20	++++
Malate 5.10^{-2} M	55	100	0	+	0	0	0	–	0
10^{-2} M	200	177	+	++++	+++	très rares	++	0	+++
Témoin	189	160	0	+++	++++	rares	++++	80	

Tableau 6. – Effets de l'addition d'acides organiques (milieu glucose-alanine-sérine) sur la croissance et les morphogenèses reproductrices. Résultats au 21ème jour à 20°C, à 2 mois 1/2 à 10°C.

La morphogenèse périthéciale est également influencée dans le sens d'une inhibition. Celle-ci est peu marquée avec le succinate, bien que ce dernier soit le plus actif sur la conidiogenèse alors que l'on observe souvent, dans d'autres cas, un effet d'exclusion réciproque entre ces deux voies morphogènes. Avec le citrate et le malate à la concentration de 10^{-2}M, seule des deux concentrations testées qui permette un bon développement mycélien, la conidiogenèse est légèrement stimulée mais, par contre, on assiste à une forte réduction de la morphogenèse périthéciale, surtout avec le citrate. Ces résultats sur la morpho-

Source : MNHN, Paris

genèse sexuée rejoignent ceux qui ont été obtenus par VISWANATH-REDDY (1972) avec *Neurospora tetrasperma* : le succinate n'a qu'un effet très limité sur la différenciation des protopérithèces, alors que la formation de ces organes peut être totalement inhibée en présence de citrate.

Ainsi, certains acides organiques permettent d'intervenir dans l'orientation morphogénétique des cultures :

– en stimulant la conidiogenèse, sur laquelle l'acétate et le succinate sont particulièrement efficaces;

– en inhibant la formation des fructifications sexuées, l'acétate et le citrate apparaissent alors les plus actifs.

III. ÉTUDE DE LA NUTRITION AZOTÉE

La source d'azote offerte à un champignon peut avoir un retentissement important, non seulement sur la croissance, mais aussi sur la morphogenèse. Ainsi, TURIAN (1964), en fournissant à *Neurospora crassa*, soit du nitrate, soit un sel d'ammonium, induit la conidiogenèse, ou maintient un développement purement mycélien.

Pour ces expérimentations, les autres constituants du milieu sont ceux du milieu de base précédemment défini.

1) Influence de la nature de la source d'azote

La quantité de chaque substance azotée, minérale ou organique, est définie par une concentration constante en azote et égale à 0,05 g/l de milieu cultural. Les acides aminés se trouvant naturellement sous la forme L, c'est cette forme qui a été retenue. Il en est de même pour l'asparagine et la glutamine.

Le tableau 7 montre que :

– Les nitrates ne permettent aucun développement de *G. leptostyla*. Les observations en gouttes pendantes, dans les cellules de Van Tieghem, montrent une totale inhibition de la germination des conidies. Toutefois, quand les milieux nitratés sont gélosés, la croissance du thalle devient visible si l'inoculum est constitué de fragments mycéliens, mais elle reste toujours faible.

– Les sels d'ammonium se révèlent peu favorables à la croissance et aux morphogenèses reproductrices. Cependant, avec l'oxalate d'ammonium, à 10°C, des ébauches de périthèces se différencient, mais très peu parviennent à maturité. Le tartrate a un effet nocif plus net : la croissance est plus limitée et les hyphes deviennent très vésiculeuses.

– La réponse du champignon à différentes formes d'azote organique est très diversifiée :

Il faut d'abord noter le résultat totalement négatif obtenu avec les amides, glutamine et asparagine, avec lesquels aucune croissance ne peut s'établir. La

Source : MNHN, Paris

Source d'azote	20°C Lumière continue			20°C Obscurité			10°C Obscurité	
	Croissance (en mg)	Conidio-genèse	Ebauches de périthèces	Croissance (en mg)	Conidio-genèse	Ebauches de périthèces	Périthèces	Asques (maturation)
NO_3K	0	–	–	0	–	–	–	
NO_3Na	0	–	–	0	–	–	–	
nitrate NH_4	6	0	0	10	0	0	–	
tartrate NH_4	35	0	0	28	0	0	–	
oxalate NH_4	102	++	0	119	0	rares	+	très rares
casamino acid	100	+++	0	123	+	+	+	rares
glycocolle	72	++	0	67	+	0	–	
alanine	178	+++++	rares	207	rare	++++	++++	très abondants
valine	12	++	0	9	+	0	–	
leucine	41	+	0	43	0	0	–	
sérine	166	+++++	rares	189	rare	++++	+++++	abondants
thréonine	5	0	0	6	0	0	–	
ac. aspartique	182	++++	rares	204	rare	++++	++++	très abondants
ac. glutamique	185	+++	rares	201	rare	+++	+++	abondants
ac. γ. amino butyrique	6	0	0	8	0	0	–	
lysine	48	+++	0	68	+	0	–	
arginine	80	++	0	87	0	++	+++	variable
cystéine	0	–	–	0	–	–	–	
phénylalanine	5	0	0	7	0	0	–	
tryptophane	16	0	0	9	0	0	+++	variable
proline	50	0	0	45	0	+	++	très variable
asparagine	0	–	–	0	–	–	–	
glutamine	0	–	–	3	–	–	–	

Tableau 7. – Influence de la nature de la source d'azote. 1) sur la croissance et les morphogenèses reproductrices après 21 jours de culture à 20°C, à la lumière continue ou à l'obscurité, 2) sur la différenciation et la maturation des périthèces à 10°C à l'obscurité, après 2 mois 1/2 de culture.

glutamine se révèle parfois une source azotée impropre à un bon développement : c'est le cas de *Gnomonia comari* (BOLAY 1972). Par contre, l'asparagine constitue généralement une forme d'azote hautement assimilable et, chez *Gaeumannomyces graminis*, elle induit une fructification sexuée abondante (GINDRAT 1968; WESTE 1970 a).

Les acides aminés qui donnent les meilleurs rendements en matière sèche sont en même temps ceux qui favorisent la conidiogenèse ainsi que la production et la maturation des périthèces : ce sont l'acide aspartique, l'acide glutamique, l'alanine et la sérine. La conidiogenèse en cultures éclairées s'accompagne alors d'une forte mélanisation des hyphes où se forment les conidiophores. L'action particulièrement favorable de ces quatre acides aminés ne doit pas nous surprendre : ils représentent la majeure partie des acides aminés libres dans la décoction d'avoine (VIALA 1972).

Différentes combinaisons de ces acides aminés, pris isolément ou couplés en respectant des proportions égales d'azote, avec le glucose, le fructose, le saccharose et le cellobiose, ont montré l'effet particulièrement favorable du

Source : MNHN, Paris

mélange alanine-sérine (chacun de ces acides aminés apportant 25 mg d'azote/l) en association avec le glucose ou le fructose, sur l'intensité des morphogenèses reproductrices et la précocité de leur différenciation. Un résultat comparable a été signalé avec *Leptosphaeria typhae* pour lequel le mélange glycocolle-sérine constitue la forme d'azote la plus adéquate pour la production des fructifications sexuées (VIDAL et al. 1975).

Parmi les autres acides aminés, seuls la lysine, le glycocolle et l'arginine produisent une notable conidiogenèse, alors que la différenciation des ascocarpes ne s'accomplit qu'avec l'arginine, la proline et le tryptophane; avec ce dernier, le développement végétatif est presque insignifiant à 20°C, après 21 jours de culture. Mais dans les cultures placées à 10°C, la croissance, après une longue phase de latence, nécessaire peut-être à l'induction d'enzymes adaptatives, parvient à s'établir et, après 2 mois de culture, le poids sec des thalles atteint 130 mg en moyenne par fiole.

L'action du tryptophane sur la morphogenèse sexuée de *G. leptostyla* est à rapprocher des observations qui ont été faites sur des Hypocréales. Cultivant *Hypomyces solani* f. *cucurbitae* avec 20 acides aminés différents, HIX & BAKER (1964) n'obtiennent des fructifications sexuées qu'en présence d'acide aspartique ou d'acide glutamique et de tryptophane, tyrosine ou phénylalanine. CURTIS (1969), QURESHI & PAGE (1972) confirment ces observations sur *Hypomyces solani* (= *Nectria haematococca*) avec la tyrosine et la phénylalanine qui sont les sources optimales d'azote pour la formation des périthèces en milieu liquide synthétique. Une action stimulante comparable sur la morphogenèse périthéciale se produit avec des composés qui se situent sur les voies de synthèse de ces acides aminés aromatiques, en particulier avec l'acide shikimique, l'acide para-hydroxy-benzoïque, l'acide anthranilique (HARMAN 1967). Une éventuelle relation entre ces voies métaboliques et la morphogenèse sexuée pourrait être recherchée chez *G. leptostyla*.

2) Influence de la concentration en azote

Pour apprécier l'influence des variations de la concentration en azote, sur la croissance et la morphogenèse de *G. leptostyla*, l'acide aspartique a été choisi comme source azotée. Cet acide aminé est ajouté au milieu cultural de base glucosé et vitaminé, de façon à réaliser l'échelle de concentration suivante (en mg d'azote par litre de milieu nutritif) : 10,25, 50, 100, 200, 400. Dans chaque cas, le pH est ramené à 6 avec NaOH.

Les figures 4 et 5 montrent que le développement végétatif s'accroît régulièrement avec la concentration en acide aspartique, jusqu'à 200 mg d'azote. Le pH (fig. 4) reste stable jusqu'à 50 mg, mais, au-delà de cette concentration, il s'élève en cours de culture en raison d'une consommation de plus en plus grande d'ions aspartate. La vitesse de croissance augmente, et le maximum de poids sec est atteint de plus en plus tôt, à mesure que la concentration en azote s'élève (fig. 5). Une phase d'autolyse de plus en plus marquée survient après le maximum de croissance.

Source : MNHN, Paris

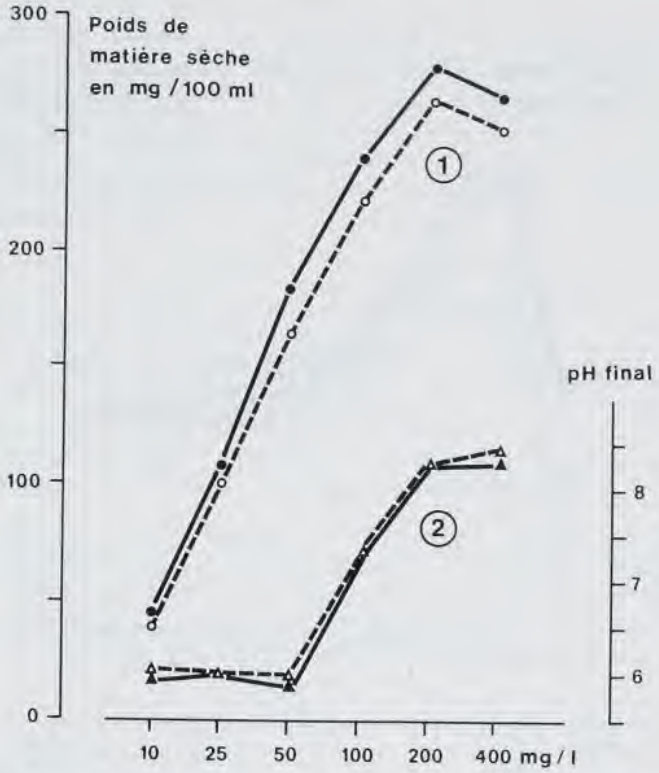


Fig. 4. — Influence des concentrations en azote (acide aspartique) sur le rendement en matière sèche ① et le pH final ② après 21 jours de culture à 20 °C, à l'obscurité (——) ou en lumière continue (- - -).

Azote mg/l	20°C Lumière continue		20°C Obscurité		10°C Obscurité	
	Conidio-genèse	Ebauches de périthèces	Conidio-genèse	Ebauches de périthèces	Périthèces	Asques (maturation)
10	+	+++	0	+++++	0	-
25	++	++	0	++++	+++	abondants
50	++++	rares	rare	++++	++++	abondants
100	++++	rares	rare	+++	++++	abondants
200	++++	0	+	+++	0	-
400	+	0	0	0	0	-

Tableau 8. — Influence de la concentration en azote (acide aspartique). 1) sur les morphogenèses reproductrices après 21 jours de culture à 20°C, à la lumière continue ou à l'obscurité. 2) sur la différenciation et la maturation des périthèces à 10°C, à l'obscurité, après 2 mois 1/2 de culture.

Source : MNHN, Paris

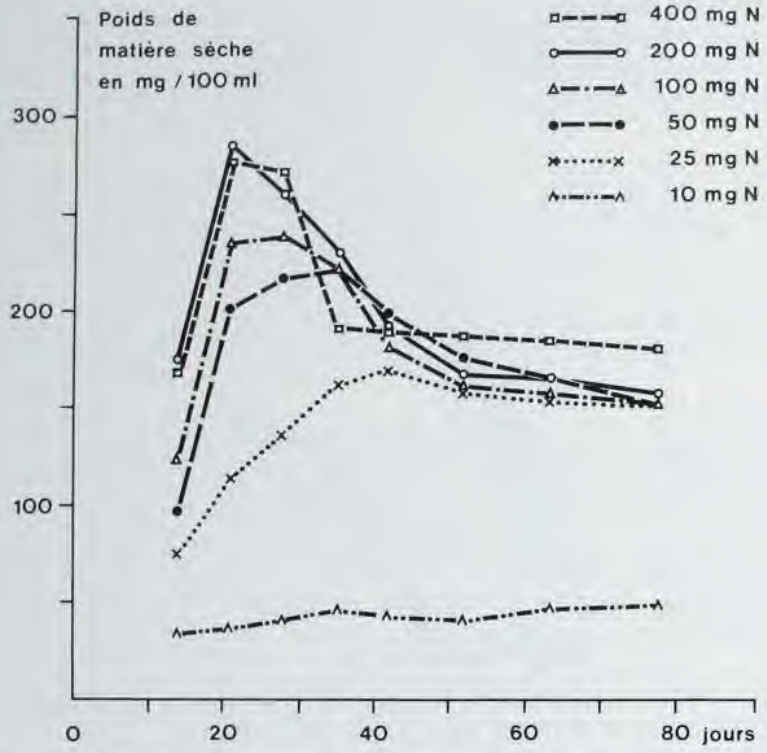


Fig. 5. – Influence des concentrations en azote (acide aspartique) sur l'évolution pondérale des cultures à 10°C et à l'obscurité.

En ce qui concerne la conidiogenèse (tab. 8), toujours photo-induite, on retiendra l'effet défavorable des plus faibles (au-dessous de 50 mg d'azote/l) comme des plus fortes concentrations (au-delà de 200 mg d'azote/l).

Pour la morphogenèse périthéciale, des constatations comparables peuvent être faites à 10°C, les périthèces ne se différenciant cependant que pour une gamme de concentration en azote plus réduite. A 20°C, à l'obscurité, l'abondance des ébauches de périthèces est maximale à la plus faible concentration et décroît quand la concentration augmente. Cet effet stimulant des faibles teneurs en azote est à rapprocher des résultats obtenus avec *Gnomonia comari* (BOLAY 1972) où seules des doses de 0,005 et 0,001 % de phosphate diammonique permettent l'apparition des ascocarpes.

Source : MNHN, Paris

IV. ÉTUDE DES FACTEURS VITAMINIQUES

Dans toutes les expériences réalisées jusqu'ici, la thiamine et la biotine avaient été ajoutées empiriquement au milieu nutritif, aux concentrations respectives de 100 et 5 µg/l. En conservant ces mêmes concentrations, différents essais d'addition de ces vitamines au milieu glucose-acide aspartique ont été réalisés. De plus, la pyridoxine est apportée à la concentration de 100 µg/l, le mésoinositol à celle de 5 mg/l.

Il apparaît que (tab. 9 et fig. 6) :

– en l'absence de vitamine, la croissance est très faible;

– l'action de la biotine est nulle;

– la thiamine exerce, par contre, un effet stimulant très prononcé sur le développement végétatif et est nécessaire à l'expression de la morphogenèse conidienne ou sexuée selon les conditions de culture;

– l'addition à la thiamine soit de biotine, soit de biotine, pyridoxine et mésoinositol ne modifie ni la croissance, ni la morphogenèse.

Les exigences vitaminiques de *G. leptostyla* sont comparables à celles des autres Gnomoniacées, chez lesquelles elles ont été étudiées. *Gaeumannomyces graminis* (GINDRAT 1966), *Gnomonia fructicola* (Mc ONIE & SNYDER 1966 a; BOLAY 1972) sont également des thiamino-hétérotrophes. La thiamine est aussi indispensable à la différenciation des périthèces chez *Gnomonia fruc-*

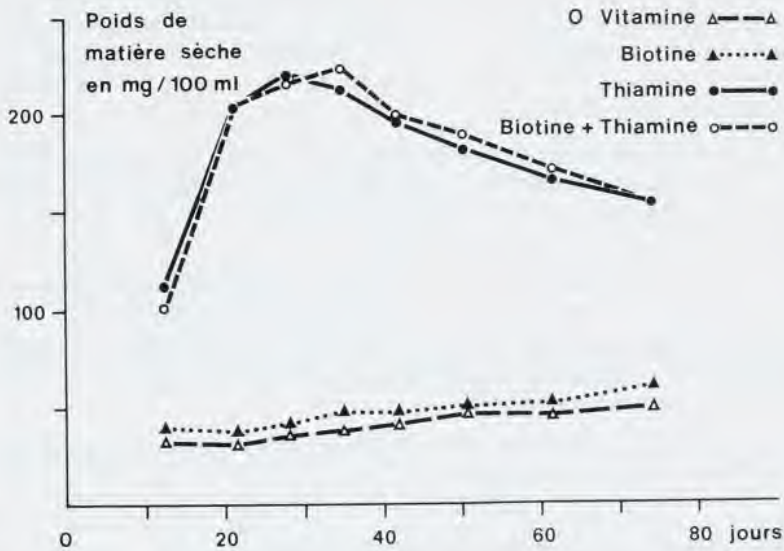


Fig. 6 – Influence de la biotine et de la thiamine sur l'évolution pondérale des cultures à 10°C et à l'obscurité.

Source : MNHN, Paris

Vitamines	20°C lumière continue			20°C Obscurité			10°C Obscurité	
	Croissance (en mg)	Conidio-genèse	Ebauches de périthèces	Croissance (en mg)	Conidio-genèse	Ebauches de périthèces	Périthèces	Asques (maturation)
Q vitamine	77	-	-	15	-	-	0	-
Biotine	19	-	-	16	-	-	0	-
Thiamine	168	++++	rares	185	rare	++++	++++	abondants
Thiamine + biotine	162	++++	rares	188	rare	++++	++++	abondants
Thiamine + biotine + pyridoxine + méso-inositol	165	++++	rares	190	rare	++++	++++	abondants
Concentration en thiamine (µg/l)								
20	161	++++	très rares	187	très rare	++++	++++	peu abondants
100	160	++++	rares	186	très rare	++++	++++	abondants
500	164	++++	rares	197	très rare	++++	++++	abondants
1000	165	++++	rares	195	très rare	++++	++++	abondants

Tableau 9. – Influence des vitamines. 1) sur la croissance et les morphogenèses reproductrices après 21 jours de culture à 20°C, à la lumière continue ou à l'obscurité. 2) sur la différenciation et la maturation des périthèces à 10°C, à l'obscurité, après 2 mois 1/2 de culture.

ticola (Mc ONIE & SNYDER 1966a). La biotine a été reconnue nécessaire à une bonne maturation des périthèces chez certains Pyrénomycètes (BARNETT & LILLY 1947), sans pour autant influer sur la croissance. Les cultures à 10°C montrent ici une maturation tout à fait identique, avec ou sans biotine, en présence de thiamine : les asques, très rares au 52ème jour, deviennent abondants au 63ème jour de culture.

Lorsqu'on fait varier les concentrations en thiamine (tab. 9), ni la croissance, ni l'intensité des morphogenèses reproductrices ne sont affectées. Seule la maturation des ascocarpes est retardée (d'une dizaine de jours en moyenne) et moins complète avec 20 µg/l de thiamine.

Des essais complémentaires ont montré que l'adjonction au milieu cultural, à la place de la thiamine, de pyrimidine et de thiazol, chacun à la dose de 50 µg/l, isolément ou en association, ne modifie pas le développement mycélien par rapport aux témoins sans vitamine; de plus, aucune morphogenèse conidienne ou sexuée ne se manifeste.

Chez *G. leptostyla*, il existe donc une hétérotrophie que l'on peut considérer comme totale vis à vis de la vitamine B_1.

V. INFLUENCE DES VARIATIONS DU pH INITIAL

Pour cette étude, deux milieux de culture ont été utilisés. Ils correspondent au milieu de base avec comme source azotée, soit l'acide aspartique(0,475g/l),

Source : MNHN, Paris

soit le mélange alanine (0,15875 g/l)-sérine (0,1875 g/l). L'addition de NaOH ou HCl permet d'obtenir une échelle de pH (tab. 10). Après stérilisation, les pH alcalins ont tendance à se rapprocher de la neutralité.

Quel que soit le milieu utilisé, la plus forte acidité (pH 3) se montre défavorable à tout développement.

Avec le milieu renfermant de l'acide aspartique, tous les autres pH permettent une bonne croissance, bien que celle-ci soit légèrement réduite aux pH neutres et alcalins. La conidiogenèse, faible à pH 4, subit peu de variations aux pH plus élevés, l'optimum se situant à pH 6. On retrouve le même optimum pour la formation des périthèces mais, pour les cultures placées à 20 °C, une stimulation de la morphogenèse périthéciale se manifeste aussi au pH le plus alcalin. A 10°C, aux pH neutres et alcalins, la différenciation des périthèces est retardée; ces mêmes pH apparaissent moins favorables à la maturation des ascocarpes.

Milieu cultural	pH initial		20°C obscurité				20°C lumière continue			
	(1)	(2)	Croissance (en mg)	pH final	Conidiogenèse	Ebauches de périthèces	Croissance (en mg)	pH final	Conidiogenèse	Ebauches de périthèces
Milieu	3	3.10	9	3	-	-	5	3	-	-
	4	4.05	173	5.7	0	++	162	5.6	+	très rares
glucose-	5	5.0	176	6.0	rare	+++	162	5.9	+++	rares
	6	5.90	187	6.30	rare	++++	169	6.35	++++	très rares
acide	7.2	6.90	162	7	+	++	149	7	+++	très rares
	8.5	7.35	158	7.1	rare	+++	153	7.1	+++	+
aspartique	9.4	7.45	147	7.2	0	++++	150	7.2	+++	+
Milieu	3	3.10	6	3	-	-	8	3	-	-
	4	4.10	93	3.5	-	-	90	3.6	-	-
glucose-	5.1	5.15	190	3.55	++	++	175	3.6	+++	0
	6	5.90	180	5.9	rare	++++	185	5.95	++++	rares
alanine-	7.15	6.90	155	6.7	rare	+	151	6.6	++	0
	8.5	7.40	153	6.9	0	+	148	6.8	+	0
sérine	9.4	7.70	150	6.9	0	++++	148	6.8	++	+++

(1) pH du milieu avant stérilisation

(2) pH du milieu après stérilisation

Tableau 10. — Influence du pH initial sur la croissance, le pH final et les morphogenèses reproductrices après 21 jours de culture à 20°C, à l'obscurité ou à la lumière continue.

Avec le milieu renfermant comme source d'azote le mélange alanine-sérine, un pH initial de 4 est peu favorable à la croissance et ne permet ni conidiogenèse, ni formation de périthèces. Le rendement en matière sèche, maximum à pH 5, décroît ensuite à mesure que le pH s'élève. Mais ce pH, optimal pour le développement végétatif, ne l'est pas pour la morphogenèse sexuée ou conidienne qui sont très nettement favorisées à pH 6 et ceci, aussi bien à 20°C qu'à 10°C. Contrairement au milieu à base d'acide aspartique, où ces morphogenèses

Source : MNHN, Paris

tolèrent une gamme de pH assez étendue, avec le mélange alanine-sérine, les variations de la concentration en ions H+ ont une action rapidement limitante à la fois sur la conidiogenèse et la différenciation des périthèces. Il faut cependant remarquer que le pH le plus élevé stimule à nouveau la formation des ébauches d'ascocarpes, comme nous l'avons observé avec l'acide aspartique; de plus, la photoinhibition de cette morphogenèse est peu marquée à ce pH.

Milieu cultural	pH initial (1)	pH initial (2)	pH final (3)	Périthèces à 1 mois	Périthèces à 2 mois	Asques à 2 mois	Asques à 3 mois
Glucose - ac. aspartique	3	3.1	3.15	-	-	- (4)	-
	4	4.05	6.3	+++	++++	+ (4)	abondants
	5	5.0	6.6	+++	++++	+	abondants
	6	5.9	6.6	+++	++++	+	abondants
	7.2	6.9	6.85	++	+++	+	abondants
	8.5	7.35	6.90	ébauches	+++	+	variables
	9.4	7.45	7.0	ébauches	+++	-	peu abondants
Glucose - alanine-sérine	3	3.10	3.10	-	-	-	-
	4	4.10	3.65	-	-	-	-
	5.1	5.15	5.2	très rares	rares	-	variables
	6	5.90	6.1	++++	+++++	+	abondants
	7.15	6.90	6.6	très rares	++	-	abondants
	8.5	7.40	6.8	ébauches	++	-	abondants
	9.4	7.70	7.0	ébauches	++	-	abondants

(1) pH du milieu avant stérilisation.
(2) pH du milieu après stérilisation.
(3) pH après 2 mois de culture.
(4) asques différenciés (+) ou non (-).

Tableau 11. — Influence du pH initial sur la différenciation et la maturation des périthèces dans les cultures à 10°C à l'obscurité.

Les pH optima définis pour *G. leptostyla*, en ce qui concerne la croissance et la conidiogenèse, sont voisins de ceux indiqués par BOLAY (1972) pour *Gnomonia comari*. Par contre, sous le rapport de l'influence comparative du

Source : MNHN, Paris

pH sur la production d'ascocarpes et le développement végétatif, nos résultats diffèrent de ceux de HENRIKSON & MORGAN-JONES (1951) avec *Gnomonia intermedia* et *Gnomonia vulgaris*. Pour ces derniers, le pH optimal pour la production des périthèces est inférieur à celui qui permet la meilleure croissance. A l'inverse, chez *G. leptostyla*, la production des ascocarpes est plus rapidement inhibée que le développement végétatif par l'acidification du milieu cultural.

CONCLUSIONS

De cette étude de l'influence de la composition du milieu nutritif sur le développement de *G. leptostyla*, on peut retenir le milieu minéral optimal suivant, pour la culture de ce microorganisme et l'obtention in vitro de ses formes de reproduction :

$KH_2\ PO_4$: 0,8 g; Ca $(PO_4\ H_2)_2$: 0,2 g; Mg SO_4, $7H_2O$: 0,5 g; Mn SO_4, $5H_2O$: 0,01 g; Zn SO_4, $7H_2O$: 0,01 g; Cu SO_4, $5H_2O$: 0,005 g; $FeSO_4$, $7H_2O$: 0,001 g.

Un pH égal à 6 s'est montré le plus favorable à la fois à la croissance et à la différenciation des conidies et des périthèces.

La vitamine B_1 doit obligatoirement être fournie au champignon qui s'est montré thiamino-hétérotrophe tant pour le développement mycélien que pour la fructification sexuée ou asexuée. Une concentration de 100 μg/l évite toute carence.

G. leptostyla réagit de plusieurs manières aux diverses sources de carbone. Parmi celles qui fournissent des rendements appréciables en matière sèche :

– certaines favorisent essentiellement le développement mycélien (cas du maltose, des dextrines, de l'amidon soluble),

– d'autres produisent les différentes morphogenèses reproductrices, mais en entraînant leur coexistence pour une même condition culturale (tréhalose, saccharose, lactose, raffinose),

– enfin, avec le glucose, le fructose, le mannitol et le cellobiose, conidiogenèse et morphogenèse périthéciale sont parfaitement dissociées selon l'éclairement. Cependant, une bonne maturation des périthèces ne se réalise qu'avec glucose et fructose; le premier permettant une meilleure croissance, sera définitivement retenu.

Une concentration en glucose de 5 g/l peut être considérée comme optimale, car, si elle n'est pas la meilleure pour le développement végétatif, elle est la plus favorable à la conidiogenèse, à la différenciation et à la maturation des périthèces.

La concentration d'azote la plus favorable, définie en présence d'acide aspartique, est de l'ordre de 5 mg/l. Le maximum de croissance n'est pas encore atteint, mais la conidiogenèse est intense et la morphogenèse périthéciale optimale, si l'on considère l'évolution complète des ascocarpes (formation et maturation).

Source : MNHN, Paris

Deux types de milieux synthétiques sont à retenir en fonction de la nature de la source azotée :

- milieu glucose-acide aspartique (glucose : 5 g/l, acide aspartique : 50 mg/N/l);
- milieu glucose-alanine-sérine (glucose : 5 g/l, alanine : 25 mg/N/l, sérine : 25 mg/N/l).

En définitive, pour les concentrations en carbone et en azote définies, la morphogenèse est surtout influencée par la nature de la source carbonée.

Outre les sources carbonées qui viennent d'être citées, il faut retenir le cas du ribose et de certains acides organiques (acétate, succinate), inducteurs de la conidiogenèse, même à l'obscurité. L'acétate et le citrate ont, de plus, un effet répresseur sur l'organogenèse périthéciale. L'action morphogène de ces composés se superpose à celle de la lumière sans l'annuler. En effet, d'une façon constante et pour toutes les variantes du milieu cultural, l'éclairement a manifesté une action inductrice ou stimulatrice de la conidiogenèse et inhibitrice de la morphogenèse périthéciale.

De plus, quelle que soit la composition du milieu nutritif, le développement complet du sporophyte est resté tributaire d'une action du froid. La morphogenèse intrapérithéciale est donc spécifiquement cryodépendante.

BIBLIOGRAPHIE

BARNETT H.L. & LILLY V.G., 1947 — The relation of thiamin to the production of perithecia by *Ceratostomella fimbriata*. *Mycologia* 39 : 699-708.

BARNETT H.L. & LILLY V.G., 1951 — The inhibitory effects of sorbose on fungi. *Science* 114 : 431-440.

BOLAY A., 1972 — Contribution à la connaissance de *Gnomonia comari* Kartsen. Étude taxonomique, phytopathologique et recherches sur sa croissance in vitro. Thèse Fac. Sci. Genève.

BONN W.G. & CAPELLINI R.A., 1970 — Sporulation of *Gibberella zeae*. III. Carbon and nitrogen nutrition on growth and macroconidium production. *Canad. J. Bot.* 48 : 1335-1337.

BRETZLOFF C.W. Jr., 1954 — The growth and fruiting of *Sordaria fimicola*. *Amer. J. Bot.* 41 : 58-67.

COCHRANE V.W., 1958 — Physiology of fungi. Wiley, New York.

CURTIS C.R., 1969 — Photoinduced perithecial formation by *Nectria haematococca* on media containing either L-tyrosine, L-phenylalanine, or D-glucose + $NaNO_3$ as sole carbon and nitrogen sources. *Canad. J. Microbiol.* 15 : 863-868.

DICKER J.W., OULEVEY N., TURIAN G., 1969 — Amino acid induction of conidiation and morphological mutants of *Neurospora crassa*. *Arch. Mikrobiol.* 65 : 241-257.

FAYRET J., 1967a — Cycle biologique naturel et in vitro, de *Gnomonia leptostyla* (Fr.) Ces. et De Not. *C. R. Acad. Sci.*, série D, 265 : 908-911.

Source : MNHN, Paris

FAYRET J., 1967 b — Action de la température et de la lumière sur la multiplication asexuée et la reproduction sexuelle de *Gnomonia leptostyla* (Fr.) Ces. et De Not. en culture pure. *C. R. Acad. Sci.*, Série D, 265 : 1887-1900.

FAYRET J., 1970 — Hétérothallisme et développement des ascocarpes chez *Gnomonia leptostyla* (Fr.) Ces. et De Not. *C. R. Acad. Sci*, Série D, 270 : 1776-1779.

FAYRET J., 1974 — Photo-inhibition de la formation des périthèces au cours de la morphogenèse sexuée chez *Gnomonia leptostyla* (Fr.) Ces. et De Not. *C. R. Acad. Sci.*, Série D, 278 : 2909-2912.

FLAVELL R.B. & FINCHAM J.R.S., 1968 a — Acetate-nonutilizing mutants of *Neurospora crassa*. I. Mutant isolation, complementation studies, and linkage relationships. *J. Bacteriol.* 95 : 1056-1062.

FLAVELL R.B. & FINCHAM J.R.S., 1968 b — Acetate-nonutilizing mutants of *Neurospora crassa*. II. Biochemical deficiencies and the roles of certain enzymes. *J. Bacteriol.* 95 : 1063-1068.

GINDRAT D., 1966 — Étude de la formation des périthèces de *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx et Olivier en milieu artificiel et mise au point d'une technique d'immersion des cultures pour leur formation induite. *Bull. Soc. Bot. Suisse* 76 : 157-175.

GINDRAT D., 1968 — Recherches sur la nutrition et le développement de *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx et Olivier, agent du piétin - échaudage des céréales. Thèse Fac. Sci., Genève.

GINDRAT D. & TURIAN G., 1967 — Ascogone et anomalie d'enroulement hyphal chez *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx et Olivier et *Neurospora crassa* Shear et Dodge. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 13 : 381-389.

HALL R., 1971 — Effect of carbon-nitrogen ratios on production of perithecia by *Sordaria fimicola*. *Canad. J. Microbiol.* 17 : 132-134.

HARMAN G.E., 1967 — Physiology of sexual reproduction in *Hypomyces solani* f. *cucurbitae*. III. Perithecium formation on media containing compounds involved in the shikimic acid pathway. *Phytopathology* 57 : 1138-1139.

HAWKER L.E., 1939 a — The influence of various sources of carbon on the formation of perithecia by *Melanospora destruens* Shear in the presence of accessory growth factors. *Ann. Bot.* 3 : 455-468.

HAWKER L.E., 1939 b — The nature of the accessory growth substances influencing growth and fruiting of *Melanospora destruens* Shear and of some other fungi. *Ann. Bot.* 3 : 657-676.

HAWKER L.E., 1951 — Morphological and physiological studies on *Sordaria destruens* (Shear) comb. nov. (syn. *Melanospora destruens*), *Sordaria fimicola* and *Melanospora zamiae*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 34 : 174-186.

HAWKER L.E., 1957 — The physiology of reproduction in fungi. Cambridge Univ. Press, Londres, New York.

HAWKER L.E. & CHAUDHURI S.S., 1946 — Growth and fruiting of certain ascomycetous fungi as influenced by the nature and concentration of the carbohydrate in the medium. *Ann. Bot.* 9 : 185-194.

HENRIKSSON L.E. & MORGAN-JONES J., 1951 — The effect of temperature, pH, and malt extract upon growth and perithecial development of two *Gnomonia* species. *Svensk Bot. Tidskr.* 45 : 648-656.

HIX S.M. & BAKER R., 1964 — Physiology of sexual reproduction in *Hypomyces solani* f. *cucurbitae*. I. Influence of carbon and nitrogen. *Phytopathology* 54 : 584-586.

KLEBS G., 1898-1900 — Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. *Jahrb. Wiss. Botan.* 32 : 1-70, 35 : 80-203.

KOBR M.J., TURIAN G., ZIMMERMAN E.J., 1965 — Changes in enzymes regulating isocitrate breakdown in *Neurospora crassa*. *Arch. Mikrobiol.* 52 : 169-177.

Source : MNHN, Paris

LACOSTE L., 1965 — Biologie naturelle et culturale du genre *Leptosphaeria*. Déterminisme de la reproduction sexuelle. Thèse Doct. Sci. Nat., Toulouse.

LEONIAN L.H., 1924 — A study of factors promoting pycnidium formation in some *Sphaeropsidales*. *Amer. J. Bot.* 11 : 19-50.

Mc ONIE K.C. & SNYDER W.C., 1966 a — Production of perithecia by *Gnomonia fructicola* in culture. *Phytopathology* 56 : 197-202.

Mc ONIE K.C. & SNYDER W.C., 1966 b — Nutrient depletion and the production of perithecia by *Gnomonia fructicola*. *Canad. J. Bot.* 44 : 149-154.

MORQUER R., 1931 — Recherches morphogéniques sur le *Dactylium macrosporum*. Thèse Doct. Sci. Nat., Toulouse.

QURESCHI A.A. & PAGE O.T., 1972 — Observations on morphological and nutritional aspects of perithecial formation of *Nectria haematococca* and *Hypomyces solani*. *Canad. J. Bot.* 50 : 2443-2448.

TURIAN G., 1961 a — L'acétate et son double effet d'induction isocitratasique et de différenciation conidienne chez les *Neurospora*. *C. R. Acad. Sci.* 252 : 1374-1376.

TURIAN G., 1961 b — Cycle glyoxylique, transaminase alanine-glyoxylate et différenciation sexuelle chez *Allomyces* et *Neurospora*. *Path. Microbiol.* 24 : 819-839.

TURIAN G., 1964 — Synthetic media for *Neurospora crassa*. *Nature* 202 : 1240.

TURIAN G., 1969 — Différenciation fongique. Masson Éd., Paris.

TURIAN G., 1970 — Aspects biochimiques de la différenciation fongique (modèle *Neurospora*). *Physiol. Vég.* 8 : 375-386.

TURIAN G. & MATIKIAN N., 1966 — Conidiation of *Neurospora crassa*. *Nature* 212 : 1067-1068.

TURIAN G. & VISWANATH-REDDY M., 1971 — Metabolic and ultrastructural aspects of sexual differentiation in *Allomyces* and *Neurospora*. *J. Indian Bot. Soc. Golden Jubilee* 50 A : 78-89.

VIALA G., 1972 — Développement du *Leptosphaeria typhae*. Métabolisme intermédiaire et reproduction sexuée. Thèse Doct. Sci. Nat., Toulouse.

VIALA G. & VIDAL G., 1972 — Reproduction sexuée, croissance et métabolisme intermédiaire chez le *Leptosphaeria typhae*. *Physiol. Vég.* 10 : 481-494.

VIDAL G., LEBBE T. & LACOSTE L., 1975 — Étude des conditions de développement et de reproduction sexuée du *Leptosphaeria typhae*. Mise au point d'un milieu chimiquement défini. *Rev. Mycol.* 39 : 43-52.

VISWANATH-REDDY M., 1972 — Aspects of protoperithecial morphogenesis in *Neurospora*. Thèse Fac. Sci., Genève.

WESTE G., 1970. — Factors affecting vegetative growth and the production of perithecia in culture by *Ophiobolus graminis*. I. Variations in media and age of mycelium. *Aust. J. Bot.* 18 : 1-10.

Source : MNHN, Paris

VERS UN SYSTEME PHYLOGENETIQUE DES CAMAROPHYLLUS (FR.) ET HYGROCYBE (FR.) (AGARICALES - HYGROPHORACÉES)

par R. KUHNER*

RÉSUMÉ. — Un système phylogénétique fondé sur des bases anatomiques et cytologiques; structure du carpophore et nombre de noyaux des spores.

SUMMARY. — A phyletic System, on anatomical and cytological backgrounds : basidiocarp structure and number of spores nuclei.

Lors de la préparation d'un mémoire sur les Hygrophoracées des zones alpines d'Europe nous avons éprouvé de sérieuses difficultés dans nos tentatives d'identification de plusieurs récoltes d'*Hygrocybe*; ces difficultés nous ont amené à étudier de nombreux exsiccata déterminés par plusieurs Mycologues d'Europe et d'Amérique du nord.

Nous avons saisi cette occasion pour compléter ou préciser les connaissances anatomiques actuelles, chaque fois qu'elles nous paraissaient présenter des lacunes importantes; une attention particulière a été apportée à l'étude des articles fondamentaux de la trame des lames, que nous avons pratiquée sur des dissociations de matériel soumis au préalable à l'action d'une solution aqueuse de KOH à 3%, à la température de 60°C, pendant deux heures.

L'expérience nous ayant appris que, chez les *Hygrocybe*, la prédominance des spores à un ou à deux noyaux constitue un excellent caractère spécifique, totalement négligé jusqu'ici par les systématiciens, nous nous sommes astreint au dénombrement des noyaux de toutes les espèces examinées; ce dénombrement a été effectué sur des frottis de sporées ou plus souvent de feuillets en utilisant la méthode de Giemsa; il est particulièrement facile sur du matériel

* Département de Biologie Végétale, Université Claude Bernard, Lyon I, 43, Bld du 11 Novembre 1918, 69621 Villeurbanne.

Source : MNHN, Paris

n'ayant que quelques mois; il est plus difficile sur de vieux exsiccata, le protoplasme de la spore se colorant alors de façon trop intense; nous pallions cette difficulté en traitant les préparations surcolorées par l'alcool absolu; le traitement doit être très bref, une fraction de seconde; si nécessaire on le répète deux ou trois fois.

En utilisant l'ensemble des caractères connus à ce jour, nous avons classé les espèces étudiées par nous selon un système dont la principale originalité est de pouvoir s'exprimer dans une optique phylogénétique, le sens de l'évolution ne nous paraissant guère discutable dès qu'on considère l'ensemble des caractères de tous ordres.

De l'étranger, nous avons étudié des exsiccata déterminés par E. ARNOLDS, R. HALLER, F.H. MOELLER, M. MOSER, P.D. ORTON, D.A. REID, A.H. SMITH. Nous remercions très vivement ces personnalités ainsi que les Conservateurs des collections de divers établissements qui nous ont aimablement communiqué un abondant matériel d'étude : Rijksherbarium de Leiden (Pays-Bas); Royal Botanic Gardens d'Edinburgh et de Kew (G.B.); Universitetets Botanisk Museum de Copenhague (Danemark); Herbarium of the University d'Ann Arbor (U.S.A.). Nous devons une reconnaissance toute particulière à P.D. ORTON, qui nous a en outre communiqué de précieuses notes inédites et des aquarelles.

Nous ne saurions oublier nos amis M. JOSSERAND et H. ROMAGNESI qui ont mis à notre disposition notes inédites et exsiccata de quelques *Hygrocybe*.

On sait que les trois ensembles, *Limacium*, *Camarophyllus* et *Hygrocybe*, distingués par FRIES dans son genre *Hygrophorus* sur des bases uniquement morphologiques, ont été redéfinis par V. FAYOD d'après la structure de la trame des lames : bilatérale chez les *Limacium*, emmêlée chez les *Camarophyllus*, régulière chez les *Hygrocybe* (1).

Nous montrerons plus loin que, dans plusieurs *Hygrocybe*, les hyphes fondamentales divergent en direction de l'hyménium de la même manière que chez les *Limacium*; ce qui caractérise ces derniers, ce n'est donc pas une telle divergence, c'est essentiellement le fait que la partie non divergente de la trame des lames est très mince ou virtuelle, ce qu'a bien souligné FAYOD; chez les *Hygrocybe* la partie non divergente est toujours épaisse. Quoiqu'il en soit, la découverte d'une divergence de la trame des lames chez plusieurs *Hygrocybe* ne pouvait en rien modifier les limites admises depuis FRIES entre *Hygrocybe* et *Limacium*, ces deux ensembles différant beaucoup l'un de l'autre par la morphologie et l'écologie.

(1) Ces trois coupures, considérées comme sous-genres par FRIES, ont été élevées à la dignité générique par FAYOD. Compte tenu de l'objectif du présent travail, il nous a paru inutile de prendre parti sur ce point de hiérarchie et par conséquent d'indiquer après les noms des auteurs des étiquettes spécifiques, ceux des auteurs des combinaisons possibles.

Source : MNHN, Paris

Il est par contre nécessaire de préciser les limites des *Hygrocybe* du côté des *Camarophyllus*. On sait que les *Camarophyllus* ne présentent jamais, sur le chapeau et au sommet du stipe, les vives couleurs jaunes, rouges, etc. . si répandues chez les *Hygrocybe* comme le soulignait FRIES dès le *Systema*; mais FRIES lui-même a placé dans les *Hygrocybe* quelques espèces qui n'offrent que des colorations grises ou brunes ressemblant plus ou moins à celles de certains *Camarophyllus*. Au niveau de ces espèces dépourvues de brillantes couleurs les *Camarophyllus* et *Hygrocybe* semblent si voisins que l'accord est loin d'être unanime sur la position de la ligne de démarcation les séparant; qu'il suffise de rappeler, pour illustrer ce fait que *H. fornicatus* et *H. ovinus*, placés dans les *Camarophyllus* par FRIES, ont été transférés dans les *Hygrocybe* par plusieurs auteurs modernes, à cause de la structure régulière de la trame de leurs lames. Des intermédiaires existant entre trames rigoureusement enchevêtrées et trames rigoureusement régulières, nous pensons que de tels transferts ne doivent être effectués qu'avec prudence, après avoir considéré l'ensemble des caractères.

Pour nous le transfert de *H. fornicatus* dans les *Hygrocybe* ne s'impose pas; certes il diffère des *Camarophyllus* à lames longuement décurrentes et à trame emmêlée tels que *H. niveus* et *H. pratensis*, non seulement par la régularité de la trame des lames, mais encore par la forme ventrue de celle-ci. Mais il est possible que ces deux caractères soient liés et ils ne doivent par faire oublier que FRIES a insisté sur le fait que, selon lui, *H. fornicatus* se rapproche des *Camarophyllus* à lames longuement décurrentes, par la texture ou la structure du chapeau et du stipe. Selon FRIES (*Epicr.*) les *Camarophyllus* sont «*sat firmi l. tenaces*» alors que les *Hygrocybe* sont «*aquoso-succulentus, fragilis*» et, dès le *Systema*, cet auteur opposait les *Camarophyllus*, champignons à stipe farci puis subcreux, aux *Hygrocybe*, champignons à stipe creux. Pour nous les caractères des parties superficielles du stipe rapprochent *H. fornicatus* des *Camarophyllus* à lames longuement décurrentes : comme chez *C. niveus*, le pied, non cortiqué, présente un mince revêtement aérifère, c'est à dire dans lequel, en raison d'une cohésion imparfaite des hyphes, il y a de l'air entre les hyphes ou les faisceaux d'hyphes, d'où l'aspect parfois presque soyeux de la surface pédiculaire, qui ne montre, sous la loupe, qu'un fibrillum très apprimé, subtil ou à peine sensible.

Si le transfert des *Camarophyllus* aux *Hygrocybe* nous paraît pour ces raisons, injustifié pour *H. fornicatus*, il nous semble absolument légitime pour *H. ovinus*, dont les affinités semblent indiscutables avec *H. nitratus*, que FRIES plaçait dans les *Hygrocybe* malgré ses couleurs gris-brun, en précisant (*Epicr.*) «*Stipes H. coccinei. . . E. lamellis et tota indole manifeste ex hac vicina*». Si FRIES a laissé *ovinus* dans les *Camarophyllus* c'est certainement parce qu'il a d'abord décrit sous ce nom (*Systema*) le champignon à chapeau compact, à stipe farci et à odeur de farine, qu'il en a séparé à partir d'*Epicrisis* sous l'étiquette *H. metapodius*; ayant d'abord confondu ces deux espèces il n'a pas osé les éloigner l'une de l'autre par la suite, tout en indiquant (*Hym. Eur.*) des caractères qui distinguent *ovinus* de *metapodius*, et qui sont justement des caractères d'*Hygrocybe*, comme le chapeau mince, rigide-fragile et le stipe devenant creux. Pour

Source : MNHN, Paris

nous la présence d'un cortex pédiculaire bien différencié, entièrement imbu jusqu'à la surface inclusivement, qui ne présente aucune trace de fibrillum soyeux-aérifère, est l'un des caractères qui rapprochent *H. ovinus* de *H. nitratus* en l'éloignant de *H. fornicatus*. Regrouper les trois espèces dans une même section des *Hygrocybe*, comme le fait SINGER, sous prétexte qu'elles présentent en commun la régularité de la trame des lames et l'absence de couleurs vives, nous paraît hautement artificiel.

CAMAROPHYLLUS (FRIES)

Tel que redéfini par FAYOD par la structure enchevêtrée de la trame des lames, l'ensemble *Camarophyllus* comprend uniquement des espèces à lames ni ventrues ni sinuées, presque toujours franchement et même fortement décurrentes, dont nous avons étudié notamment les espèces suivantes : *H. colemannianus* Blox. apud Berk. et Br., *H. lacmus* Fr., *H. niveus* Scop. ex Fr., *H. pratensis* Pers. ex Fr., *H. subradiatus* Schum. ex Secr., *H. subviolaceus* Peck.

Décurrence des lames et enchevêtrement de leur trame étaient considérés par FAYOD comme des caractères primitifs. Les *Camarophyllus* à lames décurrentes sont en fait primitifs par une foule de caractères. Considérons d'abord les hyphes du carpophore. Comme dans une foule d'autres Agaricales les hyphes de la surface du stipe ressemblent beaucoup à des hyphes mycéliennes par le fait que leurs articles sont de calibre très régulier et faible, fréquemment de l'ordre de 2,2-3,5μm, ne s'élevant qu'exceptionnellement jusqu'à 4-4,5μm. Par leur forme et leur faible calibre (1,5-3 à 2-7μm suivant les espèces) les hyphes de la surface du chapeau des *Camarophyllus* ressemblent beaucoup à celles du revêtement du stipe; elles sont filiformes comme elles. Souvent elles s'éloignent cependant davantage d'hyphes mycéliennes par une cohésion plus grande : la couche mitoyenne qui les unit, très mince chez *H. pratensis*, est plus ou moins gonflée-gélatineuse chez nombre d'espèces. Suivant les espèces l'épaisseur du revêtement piléique varie de 5-15μm ou même moins à 60-100μm. Parmi les hyphes profondes du carpophore, les hyphes fondamentales sont plus larges que les hyphes des revêtements, mais elles sont dans l'ensemble peu larges comme l'a fait remarquer J.E. LANGE pour celles de la trame des lames. D'après nos mesures leur largeur varie de 4-7 à 9-14μm selon les espèces, non seulement dans la trame des lames mais aussi dans la chair du chapeau et du stipe; dans la trame des lames leur longueur ne dépasse qu'exceptionnellement 100 à 150μm, et leur forme régulièrement cylindrique rappelle encore celle d'hyphes mycéliennes.

Par leur équipement nucléaire, les articles fondamentaux de ces *Camarophyllus* diffèrent également peu d'articles mycéliens puisque nous n'avons dénombré que 2, 3 ou 4 noyaux dans ceux du stipe de *H. colemannianus* (sous le nom de *H. subradiatus*), *H. lacmus*, *H. niveus* et *H. pratensis*.

Dans toutes les espèces examinées par nous les boucles ont semblé présentes à toutes les cloisons des hyphes du stipe, du chapeau ou des lames et à la cloison

Source : MNHN, Paris

de base des articles hyméniens; seuls font naturellement exception les carpophores parthénogénétiques; cette constance des boucles est encore un caractère généralement considéré comme primitif.

L'hyménium lui-même cumule une série de caractères primitifs. D'abord il est constitué d'éléments d'une seule sorte; il n'y a pas de cystides, pas même de cystides marginales. Ensuite les basides sont étroitement allongées, se rapprochant par là davantage des articles des hyphes de la trame: d'après ARNOLDS le rapport longueur : largeur oscille pour les basides de 11,2-5,6 à 7,8-4,2 selon les espèces.

Enfin, d'après nos observations sur les espèces énumérées plus haut, dans une sporée les spores les plus nombreuses ne renferment qu'un noyau, caractère que nous considérons depuis longtemps comme primitif.

H. fornicatus touche aux *Camarophyllus* à lames décurrentes par la forme et le calibre des articles de ses hyphes, dont ceux du stipe sont binucléés, comme par la dominance des spores à un noyau.

HYGROCYBE

Nous distinguons ici, outre la section type, les sections *Olidae* et *Psittacinae*, par lesquelles nous allons commencer.

Section *Olidae* (Bataille)

Carpophores n'ayant que des pigments gris ou bruns, à stipe sec et à chapeau tout au plus lubrifié. Lames plus ou moins distinctement ventrues ou sinuées.

Nous avons étudié *H. ingratus* Jensen-Moeller, *H. nitiosus* Blytt, sensu Orton, non Haller, *H. nitratus* Pers. ex Fries et *H. ovinus* Bull. ex Fr.

Si la coloration grise ou brune de certaines parties du carpophore des *Olidae* peut faire penser à celle du *Camarophyllus* qu'est *H. fornicatus*, il est probable qu'elle est d'origine bien différente : si la pigmentation de *H. fornicatus* est vacuolaire, celle des *Olidae* a vraisemblablement même origine que celle des Russules de la sous-section *Nigricantinae*. On sait que, chez les *Olidae* que sont *H. ingratus*, *H. nitiosus* et *H. ovinus* les lames et la chair rougissent plus ou moins à la coupure et que les deux dernières espèces deviennent finalement noirâtres. Pour *H. ovinus* nous avons noté qu'à l'origine la plupart des hyphes du revêtement piléique sont incolores, que seulement plusieurs d'entre elles présentent, comme les spores collapsées que l'on rencontre à la surface du chapeau, un contenu brunâtre à brun fuligineux; pour *H. ingratus* nous avons noté que dans le revêtement piléique, qui est la seule partie nettement colorée du carpophore, le contenu de la plupart des hyphes est incolore; seules plusieurs hyphes offrent un contenu jaunâtre, granuleux, sans doute par nécrose.

Source : MNHN, Paris

Avec le type de pigmentation l'odeur est certainement l'un des caractères les plus remarquables de la section *Olidae*. L'odeur nitreuse de *H. ingratus*, *H. nitiosus*, *H. nitratus* et *H. ovinus* éloigne en effet ces espèces, non seulement de *H. fornicatus*, mais encore de toutes les Hygrophoracées que nous connaissons.

Des spores binucléées ont été repérées en grand nombre chez *H. ingratus*, *H. nitiosus*, *H. nitratus* et *H. ovinus*. Ce caractère, qui contribue encore à éloigner ces espèces de *H. fornicatus*, situe l'ensemble de la section *Olidae* à un niveau d'évolution relativement élevé.

Le niveau atteint varie toutefois très sensiblement d'une espèce à l'autre. Nous plaçons à la base *H. ingratus* et *H. nitratus* chez lesquels les articles fondamentaux des lames ont une largeur (5 à 15μm) et une longueur comparables à celles de plusieurs *Camarophyllus*, dont *H. fornicatus*. Chez *H. nitratus* on rencontre, sur l'arête des lames, des cystides plus ou moins nombreuses de 17-70μm de long, se distinguant nettement des basides par l'absence quasi totale de cytoplasme et par la largeur souvent nettement plus grande, 5-11μm.

Chez *H. nitiosus* et *H. ovinus*, qui diffèrent des précédents par le fait que le carpophore, qui peut devenir entièrement noirâtre avec l'âge ou par la dessiccation, a un stipe franchement gris dès l'origine, le calibre des articles fondamentaux est plus élevé, 8-28μm dans les lames, parfois jusqu'à 20-40μm dans le chapeau. Ces espèces sont remarquables par la présence de laticifères et de pseudocystides faciales et marginales facilement repérables sur matériel sec traité par l'ammoniaque à la coloration brunâtre de leur contenu. Les pseudocystides ne sont que les extrémités de laticifères de la trame des lames, qui se redressent à angle droit dans l'hyménium; nous avons vérifié qu'on peut suivre de nombreuses pseudocystides, de leur extrémité libre jusque dans la trame des lames et sur une grande hauteur de celle-ci sans rencontrer de cloisons.

On peut cependant rencontrer des cloisons dans les laticifères des lames de *H. nitiosus*, mais celles-ci sont si distantes que nous n'avons pu en repérer deux sur le même laticifère; partant d'une cloison nous avons pu suivre le laticifère sans en rencontrer d'autre sur une longueur toujours supérieure à 700-1000μm ou même à 1800μm alors que la longueur des articles fondamentaux est souvent de l'ordre de 50-200μm seulement.

Section *Psittacinae* (Bataille)

Les revêtements piléique et pédiculaire sont remarquablement visqueux-glutineux; ils sont épais, étant formés d'hyphes dressées perpendiculairement aux surfaces; en raison de leur épaisseur la viscosité est particulièrement persistante; en raison de leur structure la loupe ne révèle à aucun moment de fibrilles longitudinales sur le stipe ou rayonnantes sur le chapeau.

Les espèces les plus connues peuvent être groupées comme suit :

Subsection *Tristes* (Bataille), emend.: *H. irrigatus* Pers. ex Fr., *H. unguinosus* Fr.

Source : MNHN, Paris

Subsection *Laetae* (Bataille, ut *Laeti*), emend.
Séries *Psittacini* (Bataille) : *H. psittacinus* Schaeff. ex Fr., *H. sciophanus* Fr.
Séries *Laeti* (Bataille) : *H. laetus* Pers. ex Fr.

Les deux sous-sections que nous reconnaissons dans les *Psittacinae* sont définies par les colorations du carpophore : les *Tristes* groupent des espèces qui ne possèdent que des pigments gris ou bruns, les *Laetae* des espèces autrement colorées.

Pour BATAILLE les *Laeti* comprenaient tous les *Hygrocybe* de couleurs gaies, c'est à dire non seulement des espèces de la subsection *Laetae*, telle que conçue ici, mais toutes les espèces de la section *Hygrocybe*, telle que circonscrite plus loin. Or si le revêtement du stipe est sec dans nombre d'espèces de cette dernière section, il est plus ou moins visqueux dans d'autres, et alors constitué soit d'hyphes couchées le long du stipe, soit d'hyphes plus ou moins redressées, parfois perpendiculaires à sa surface comme chez les *Psittacinae*. Dans ce dernier cas seulement la délimitation de la subsection *Laetae* vis à vis de la section *Hygrocybe* peut offrir quelque difficulté. Nous avons laissé dans la section *Hygrocybe* celles des espèces à stipe visqueux comme le chapeau, qui ne présentent que des couleurs allant du rouge écarlate, au rouge vermillon, à l'orangé, au jaune d'or ou au jaune citron, comme la majorité des espèces de la section.

La subsection *Laetae* se trouve alors essentiellement réduite à des espèces dont les couleurs s'écartent plus ou moins de celles-ci; plusieurs présentent, au moins à l'origine et sur une partie du carpophore, le sommet du stipe par exemple, des teintes bleues, vertes ou olivacées; dans celles qui sont uniquement rouges ou jaunes ou le deviennent, ces couleurs sont souvent un peu différentes de celles couramment rencontrées dans la section *Hygrocybe*, d'une façon générale plus rabattues ou, si l'on préfère, plus éteintes.

Nous avons reconnu que le pigment bleu-vert du revêtement pédiculaire de *H. psittacinus* incruste nettement par places la paroi des hyphes filiformes de la viscosité mais nous ignorons la topographie, à l'échelle cellulaire, des autres pigments des *Laetae*; nous ignorons s'ils sont intracellulaires comme le sont les pigments jaunes-rouges des espèces de la section *Hygrocybe*.

Il est intéressant de noter que la *muscaflavine*, pigment jaune initialement isolé et analysé chez *Amanita muscaria*, a été détectée par A. BRESINSKY et I. KRONAWITTER dans une quinzaine d'espèces de la section *Hygrocybe*, mais que ces auteurs l'ont vainement recherchée chez les espèces étudiées par eux de notre section *Psittacinae*.

On ne saurait s'étonner qu'ils n'aient pas pu détecter de muscaflavine chez le *Psittacinae* gris-brun qu'est *H. unguinosus*, pas plus qu'ils n'en ont décelé chez *H. nitiosus* et *H. ovinus*, espèces également gris-brun, de la section *Olidae*. Ce qui est plus remarquable c'est qu'ils n'aient pu déceler de muscaflavine chez les *Psittacinae* de la subsection *Laetae*, que sont *H. laetus* et *H. psittacinus*, deux espèces qui, comme l'a fait remarquer ARNOLDS, se ressemblent par leur aspect sur exsiccata et qui possèdent, à un moment donné, une pigmentation jaune, au moins sur les lames.

Source : MNHN, Paris

L'intérêt taxinomique de la muscaflavine semble bien établi, car si les auteurs cités ont reconnu sa présence dans plusieurs *Limacium* et dans quelques Amanites autres que *A. muscaria*, ils ont vainement recherché ce pigment dans une trentaine de Basidiomycètes présentant des colorations jaunes ou jaunes-rougeâtres, qu'il s'agissent d'Hyménomycètes lamellés ou porés, de Gastéromycètes ou d'Hétérobasidiés.

L'absence de muscaflavine chez les espèces de la section *Psittacinae*, telle que nous la comprenons, souligne donc le caractère naturel de la limite que nous avions tracée entre les sections *Psittacinae* et *Hygrocybe* avant de connaître les précisions d'ordre chimique que nous venons de rapporter.

De façon entièrement indépendante, E. ARNOLDS, qui ignorait également ces précisions, est arrivé à concevoir une section *Laeti*, qui correspond exactement à notre section *Psittacinae*. Il définit cet ensemble notamment par le fait que les boucles, au moins nombre d'entre elles, sont «en médaillon» ou, si l'on préfère, «ansiformes», c'est à dire avec un orifice en boutonnière; nous avions reconnu cette particularité bien avant qu'il n'ait attiré l'attention sur elle.

S'il est facile, chez les *Psittacinae* comme chez les autres *Hygrocybe*, de repérer des boucles au pied des basides et à des cloisons du sous-hyménium, on note souvent, chez les *Psittacinae*, une tendance plus ou moins marquée à la disparition des boucles au niveau des cloisons des autres hyphes, ce qui est rarement le cas chez les autres *Hygrocybe*. Lorsqu'on considère les hyphes profondes du carpophore on arrive à l'idée que *H. sciophanus* est relativement peu évolué à ce point de vue, car on rencontre pas mal de cloisons bouclées si on en trouve aussi qui sont dépourvues d'anses. *H. psittacinus* vient ensuite, les cloisons non bouclées étant nettement en majorité. Chez *H. irrigatus* et *H. laetus* la prédominance des cloisons simples est bien plus marquée, au point qu'il est en général très difficile de repérer des cloisons pourvues d'anses d'anastomose, particulièrement dans la chair du chapeau et du stipe. Si l'on considère les hyphes dressées des revêtements visqueux, on fait des constatations analogues: coexistence fréquente de cloisons bouclées et de cloisons simples chez *H. psittacinus* et *H. sciophanus*; prédominance de cloisons sans boucles chez *H. laetus*, où les cloisons bouclées sont parfois presque absentes, rareté ou absence de cloisons bouclées chez *H. irrigatus*.

Concernant le nombre de noyaux des spores, *H. psittacinus* semble relativement primitif car, si on peut toujours y trouver un certain nombre de spores binucléées, les spores à un noyau sont de loin les plus nombreuses. Chez *H. irrigatus* et *H. laetus*, ce sont les spores à deux noyaux qui prédominent nettement.

Il est satisfaisant pour l'esprit de constater que *H. laetus*, évolué par ses spores binucléées et la tendance marquée à la disparition des boucles, apparaisse également évolué par une différenciation anatomique remarquable, que nous n'avons retrouvée chez aucun autre *Hygrocybe*.

Le sous-hyménium de *H. laetus* est épais et gélifié comme le revêtement du chapeau et, comme ce dernier, formé d'hyphes filiformes-grêles, diam. 2μm,

Source : MNHN, Paris

lâchement enchevêtrées; la gélification se poursuit jusqu'au niveau de l'arête des lames, qui est stérile, par d'innombrables extrémités piliformes, grêles, diam. 1,5-3μm.

La longueur des articles fondamentaux du médiostrate et de la chair piléique des *Psittacinae* est habituellement comprise entre 30-100 et 50-150μm d'après les mesures concordantes de ARNOLDS et de nous-même, c'est à dire qu'elle est comparable à celle des articles correspondants des *Camarophyllus*, mais leur largeur est sensiblement plus grande que chez ces derniers, oscillant souvent entre 10 et 20μm, et se trouvant alors comparable à celle que l'on rencontre chez nombre d'*Hygrocybe* de la subsection *Coccineae*. Chez *H. irrigatus* nous avons noté une particularité structurale qui n'est pas rare dans cette sous-section: le médiostrate est légèrement divergent sur ses bords, où beaucoup d'hyphes semblent se terminer par une extrémité libre en direction de l'hyménium.

Section *Hygrocybe*

Par leurs couleurs, qui ne se situent pas uniquement dans la gamme du brun au gris ou au noir, les espèces de cette section se distinguent facilement de celles de la section *Olidae*. La limite est plus difficile à trancher du côté de la section *Psittacinae*, dont plusieurs espèces ont également de vives couleurs.

Si la gamme des couleurs représentées dans la section *Hygrocybe* est étendue, il n'en est pas moins vrai que la plupart des espèces offrent, au moins sur une partie du carpophore, des couleurs rouges, orangées ou jaunes; le plus souvent elles ne présentent même que de telles couleurs.

Des observations simples conduisent à l'idée qu'un même pigment peut donner une couleur rouge ou jaune suivant qu'il est plus ou moins concentré dans le suc cellulaire. On sait que, dans nombre d'*Hygrocybe* dont le stipe est rouge en haut, il est ou devient jaune plus bas; ce fait est certainement dû à ce que les articles du sommet du stipe sont les derniers à s'allonger et qu'ils gardent de ce fait plus longtemps une forte concentration en pigment. GRO GULDEN et MORTEN LANGE ont fait remarquer que des carpophores d'espèces du groupe de *H. conicus*, où la couleur jaune domine sur le frais, deviennent rouge-orangé ou même rouge brique en séchant; il est possible que ce changement de coloration ne soit dû qu'à une augmentation de concentration de la solution pigmentaire liée à une perte d'eau. Si un même pigment se rencontre dans toute l'épaisseur du chapeau il pourra donner une couleur rouge ou jaune, non seulement s'il est plus ou moins concentré, mais aussi si la couche pigmentée est plus ou moins épaisse et plus ou moins hydratée; on sait que les couleurs rouges des chapeaux saturés d'eau passent à l'orangé ou au jaune sur des carpophores encore frais mais ayant subi un déficit hydrique suffisant pour que l'eau des espaces interhyphiques soit remplacée par de l'air qui rend la chair piléique opaque.

Les analyses chimiques de A. BRESINSKY et I. KRONAWITTER parlent dans le même sens : ces auteurs ont en effet détecté la muscaflavine aussi bien

Source : MNHN, Paris

chez les *Hygrocybe* surtout jaunes ou orangés (*H. acutoconicus, H. chlorophanus, H. citrinovirens, H. konradii, H. obrusseus*) que chez des espèces surtout rouges (*H. coccineus, H. coccineocrenatus, H. conicus, H. insipidus, H. intermedius, H. marchii, H. miniatus, H. mollis, H. nigrescens, H. puniceus, H. splendidissimus*).

Nous distinguons ici deux sous-sections : *Conicae* et *Coccineae*.

Subsection *Conicae* Fayod

C'est certainement dans les *Conicae* qu'on trouve les *Hygrocybe* cumulant le plus de caractères que nous considérons comme évolués.

Les lames ne sont jamais décurrentes, ni même arquées, elles sont toujours plus ou moins ventrues; distinctement adnées chez certaines espèces à chapeau plutôt convexe, elles sont très étroitement adnées à sublibres chez celles dont le chapeau est conique.

Les articles fondamentaux des tissus profonds sont beaucoup plus larges que ceux des *Camarophyllus*; selon les espèces leur calibre oscille dans les lames de 9 à 19 μm pour les plus étroits à (10-13) 16-25 μm pour les plus larges, et dans la chair piléique de 11 à 22 μm pour les plus étroits à (13)-20-40-(55) μm pour les plus larges.

Ces articles fondamentaux sont en même temps très longs, comme l'a fait remarquer FAYOD pour ceux de la trame des lames. Le minimum de longueur est 200 μm d'après nos mesures, 390 μm d'après celles de ARNOLDS; de tels articles sont d'ailleurs accompagnés dans la même trame d'articles dont la longueur est bien plus élevée, pouvant atteindre 500 μm ou davantage; dans plusieurs hyphes il n'est pas rare d'en rencontrer dont la longueur atteint 1000 μm; selon ARNOLDS la longueur des articles des lames de *H. conicus* oscille entre 600 et plus de 2400 μm; les énormes dimensions des articles fondamentaux de cette espèce expliquent que FRIES ait pu écrire à son sujet: «*Facillime vero ab omnibus vicinis dignoscitur substantia succosa*».

Les articles fondamentaux des *Conicae* s'écartent donc beaucoup d'articles mycéliens par leurs grandes dimensions; ils s'en écartent aussi beaucoup par leur forme, comme l'a bien remarqué ARNOLDS : s'ils paraissent à première vue cylindriques, car ils le sont approximativement sur une très grande longueur, leurs extrémités sont plus ou moins longuement atténuées, de sorte que leur forme générale rappelle celle d'un *Ascaris*. Nous avons vérifié que la trame des lames est constituée d'articles de ce type chez toutes les espèces de la liste suivante : *H. acutoconicus* Clémens, *H. aurantiolutescens* Orton, *H. calyptraeformis* Berk. et Br., *H. chlorophanus* Fr., *H. citrinovirens* J. Lange, *H. conicus* Scop. ex Fr., *H. flavescens* Kauffm., *H. intermedius* Pass., *H. konradii* Haller, *H. langei* Kühner, *H. obrusseus* Fr., *H. spadiceus* Scop. ex Fr., *H. subglobisporus* Orton.

En rapport avec les grandes dimensions qu'ils acquièrent les articles en *Ascaris* des *Conicae* sont le siège d'une importante multiplication des noyaux; dans

Source : MNHN, Paris

les articles fondamentaux du stipe nous avons dénombré une quarantaine de noyaux chez *H. conicus* et *H. spadiceus*. Malgré la longueur exceptionnellement grande des articles en *Ascaris* de la trame des lames, les hyphes qu'ils constituent y sont rigoureusement rectilignes et parallèles, au moins dans chaque moitié du médiostrate, car à deux reprises nous avons noté que les hyphes d'une moitié ne sont pas exactement parallèles à celles de l'autre moitié, mais qu'elles forment avec elles un angle ouvert en direction de l'arête, angle toutefois si aigu qu'il passe facilement inaperçu.

Le haut degré d'évolution des *Conicae* se traduit également par le fait que les basides y sont nettement plus trapues que celles des *Camarophyllus*, le rapport longueur : largeur oscillant pour ces articles de 7-2,8 à 3,2-2,2 selon les indications de ARNOLDS.

La plupart des *Conicae* ont deux noyaux dans chaque spore, ce que nous avons considéré depuis longtemps comme un caractère évolué; d'après nos observations toutes les espèces de la liste présentée plus haut présentent ce caractère, sauf *H. acutoconicus* et *H. calyptraeformis*, dont les spores sont uninucléées.

D'autres caractères qui confirment le caractère très évolué de l'ensemble des *Conicae* ne s'observent que dans quelques espèces.

Au niveau de l'hyménium on peut noter dans divers lots de la stirpe *Conicus*, la présence de poils claviformes ou piriformes tapissant l'arête des lames qu'ils rendent stérile et, chez *H. calyptraeformis* et *H. spadiceus* notamment, la présence de grandes cystides saillantes, dispersées sur l'arête ou les faces des lames.

Au niveau des revêtements on peut noter le fort calibre (20μm) des articles superficiels du chapeau de *H. intermedius* et la forte viscosité du stipe de *H. chlorophanus*.

On peut enfin remarquer que *H. calyptraeformis*, qui s'écarte de nos autres *Conicae* par sa pigmentation particulière (pigmentation rosée ou lilacine du chapeau et absence de pigments jaunes), présente une tendance marquée à la disparition des boucles; comme l'ont bien noté HESLER et SMITH celles-ci n'existent que dans la région hyménium + sous-hyménium.

Subsection *Coccineae* Fayod

Ici se rangent de nombreuses espèces dont nous avons étudié les suivantes : *H. acutopuniceus* Haller (= *H. acuta* Moeller), *H. aurantiosplendens* Haller, *H. cantharellus* Schw., *H. ceraceus* Wulf. ex Fr., *H. citrinus* Rea, *H. coccineocrenatus* Orton, *H. coccineus* Schaeff. ex Fr., *H. glutinipes* J. Lange, *H. helobius* Arnolds, *H. insipidus* J. Lange, *H. quietus* Kühner, *H. marchii* Bres., *H. miniatus* Fr., *H. miniatus* f. *longipes* Smith et Hesler, *H. mollis* Berk. et Br., *H. parvulus* Peck, *H. phaeococcineus* Arnolds, *H. puniceus* Fr., *H. reai* R. Maire, *H. splendidissimus* Orton, *H. squamulosus* Ell. et Ev., *H. strangulatus* Orton, *H. subceraceus* Murr., *H. subminutulus* Murr., *H. substrangulatus* Orton, *H. turundus* Fr. ex Fr., *H. vitellinus* Fr.

Source : MNHN, Paris

On observe dans cette sous-section une diversification plus grande que dans la sous-section *Conicae*. Elle se manifeste déjà dans la forme du carpophore puisqu'on y trouve à la fois des types à lames ventrues, parfois sublibres comme *H. splendidissimus*, et des types à lames décurrentes, plusieurs de ces derniers, *H. turundus* par exemple, ayant même le chapeau ombiliqué.

La diversification se manifeste aussi dans les caractères des surfaces : souvent sec le stipe est quelquefois visqueux, comme chez *H. glutinipes* et *H. subminutulus*; souvent glabre, le chapeau est parfois squamuleux, comme chez *H. miniatus* et *H. turundus*, et BATAILLE a créé pour ces dernières espèces un groupe *Squamulosi*.

Avec ARNOLDS nous pensons qu'il est plus naturel de caractériser les *Squamulosi* par la grande largeur des articles du revêtement piléique, plus commode aussi car, comme l'a bien remarqué FRIES, le chapeau d'un *Squamulosi* comme *H. miniatus* est d'abord lisse et glabre. D'après nos observations la largeur des articles terminaux des hyphes superficielles du chapeau varie, selon les espèces, de 7-9 à 10-20(25)μm chez les *Squamulosi* typiques, alors qu'elle ne dépasse pas 3-5μm, voire 1,5-2μm chez les autres *Coccineae*.

Sont des *Squamulosi* typiques *H. cantharellus, H. coccineocrenatus, H. helobius, H. marchii* sensu ORTON, REID, non HALLER, *H. miniatus, H. mollis, H. squamulosus, H. turundus*, sensu HESLER-SMITH.

Si cet ensemble est indiscutablement naturel il est relié au reste des *Coccineae* par des espèces comme *H. strangulatus* et *H. substrangulatus* chez lesquelles, comme l'a remarqué ORTON, leur auteur, les hyphes grêles de la surface du chapeau sont peu nombreuses ou ne forment qu'une couche si mince qu'on voit facilement sur un scalp les hyphes sous-jacentes plus grosses. Ayant étudié de ces deux espèces des exsiccata communiqués par leur auteur, nous avons noté que leur revêtement piléique présente de nombreux articles terminaux de fort calibre (8-13μm) tout à fait semblables aux articles superficiels des *Squamulosi* typiques, et qu'il faut parfois une observation attentive pour détecter des hyphes grêles au-dessus d'eux; il est souvent possible de repérer l'extrémité libre de ces hyphes grêles, qui semblent nées de couches situées sous les gros articles; les extrémités des hyphes rayonnantes à gros articles qui constituent le revêtement piléique des *Squamulosi* typiques étant imbriquées les unes sur les autres, comme les tuiles d'un toit, les mots dessus et dessous n'ont peut-être pas grande signification. Sur des exsiccata transmis par ARNOLDS et par MOSER sous l'étiquette *H. turundus*, nous avons parfaitement vu les articles terminaux de fort calibre (5-12μm) des *Squamulosi*, groupe dans lequel ARNOLDS place cette espèce, mais nous avons également repéré des poils venus de la profondeur dont la partie saillante, grêle, 2-2,7 à 3-3,5μm était toutefois courte, 20-25μm. Par cette structure *H. turundus* au sens des auteurs cités semble donc relier *H. strangulatus* et *H. substrangulatus* aux *Squamulosi* les plus typiques.

Les revêtements piléique et pédiculaire ne sont jamais visqueux chez les *Squamulosi* et espèces affines, alors qu'ils peuvent l'être chez d'autres *Coccineae*.

Source : MNHN, Paris

Les revêtements piléiques d'hyphes grêles, qui caractérisent les *Coccineae* autres que les *Squamulosi*, ont une épaisseur fort variable d'une espèce à une autre. HESLER et SMITH ont fait remarquer que les confusions parfois faites en Amérique du nord entre *H. coccineus* et *H. puniceus* sont faciles à éviter si l'on se rappelle que *H. puniceus* est la seule de ces deux espèces à posséder un revêtement gélifié remarquablement épais, 100 à 180 μm selon les mesures concordantes de HESLER et SMITH et de ARNOLDS, ce dernier auteur précisant que le revêtement piléique de *H. coccineus* est peu différencié et qu'il n'a que 15 à 40 μm d'épaisseur; cette différence nous a permis de reconnaître que *H. splendidissimus* est proche de *H. coccineus* comme l'écrivait son auteur et non de *H. puniceus* comme REID l'a prétendu par la suite.

Dans les revêtements piléiques d'hyphes grêles, celles-ci sont plus ou moins couchées ou au contraire plus ou moins redressées; il n'est pas rare qu'elles soient obliquement ascendantes par rapport à la surface qui les porte.

Les revêtements piléiques visqueux n'ont pas forcément une structure homogène. Chez une espèce apparemment nouvelle, que nous appelons provisoirement *H. salicis-herbaceae*, les hyphes obliquement ascendantes qui constituent ce revêtement sont de deux sortes : d'innombrables hyphes grêles, 2,2-3 μm diam., à bouts libres de même épaisseur ou seulement un peu renflés 4,5 μm diam. et des hyphes parfois jaunâtres qui sont souvent plus ou moins dilatées, 5-10 μm diam. à leur extrémité libre; ces dernières, d'origine plus profonde que les hyphes grêles, se terminent au-dessous du plus haut niveau atteint par celles-ci.

Dans les *Coccineae* à stipe visqueux pour lesquels HERINK a créé un groupe *Insipidi*, la viscosité du stipe est toujours formée par des hyphes grêles, 1-4 μm diam., de calibre relativement très régulier d'un bout à l'autre et donc filiformes, ne présentant que des cloisons très distantes; à part la gélification de leur paroi ces hyphes ne diffèrent pas des hyphes superficielles des stipes secs et donc pas sensiblement des hyphes mycéliennes. Chez certaines espèces, *H. insipidus* et *H. subminutulus* par exemple, ces hyphes gélifiées ont, au plus faible grossissement, l'allure de poils perpendiculaires ou obliques par rapport à la surface du stipe; la longueur de ces poils est variable sur un même stipe, mais les plus longs mesurent, suivant les espèces, de 80 à 800 μm ou même éventuellement davantage. Chez d'autres espèces, *H. reai* par exemple, la gaine visqueuse du stipe est formée d'hyphes couchées longitudinalement.

Dans plusieurs *Coccineae* considérés comme non visqueux sur le stipe nous avons retrouvé à la surface de celui-ci de longues hyphes-poils perpendiculaires ou obliques rappelant tout à fait celles signalées à l'instant chez des espèces à stipe visqueux; de telles structures ont été observées chez *H. parvulus* et même chez certains *Squamulosi*; dans d'autres *Squamulosi* comme *H. marchii* et *H. squamulosus*, le stipe ne porte que des poils courts, de 30-60 μm par exemple.

Selon FAYOD la trame des lames, constituée par des hyphes très allongées chez les *Conicae*, est formé d'hyphes courtes chez les *Coccineae*. Nous considérerons donc comme espèces typiques de *Coccineae* celles dont les articles

Source : MNHN, Paris

de la trame des lames sont relativement peu allongés; ce sont aussi les plus nombreuses.

D'après nos mesures effectuées sur exsiccata traités par la potasse, la longueur de ces articles ne dépasse guère 70-150μm chez la plupart des espèces, s'abaissant même à 20-50μm chez certaines : selon ARNOLDS leur longueur oscille de 90-230μm pour les plus longs à 20-50μm pour les plus courts.

D'après les mesures effectuées par nous sur le vivant, la largeur des articles fondamentaux des lames varie, selon les espèces, de 5 à 15μm pour les plus étroits à 10-25μm pour les plus larges et les articles de la chair piléique ont une largeur comparable à celle des articles des lames.

Parmi les espèces où ces derniers sont toujours de faible calibre on peut citer *H. marchii*, sensu ORTON et sensu REID où leur largeur oscille entre 5-8 et 8-13μm et se trouve donc tout à fait comparable à celle des *Camarophyllus*. Mais dans d'autres *Coccineae* la largeur des articles des lames est de 12-25μm et se trouve donc comparable à celle des *Conicae*. En examinant sur le vivant des coupes transversales de lames nous avons noté que chez plusieurs de ces *Coccineae* dont les articles fondamentaux des lames ne sont pas très longs, la trame des lames, plus ou moins régulière dans sa partie profonde, devient divergente à l'approche de l'hyménium. Sont dans ce cas *H. coccineus, H. marchii, H. miniatus, H. puniceus, H. reai, H. salicis-herbaceae*. Dans la région divergente les hyphes sont plus étroites que dans la région régulière; elles sont cependant nettement plus larges que les hyphes sous-hyméniales entre lesquelles elles se glissent, leur calibre pouvant encore être de 6-12 à 5-7μm au pied de l'hyménium; chez *H. coccineus* et *H. salicis-herbaceae* ces hyphes divergentes issues du mediostrate ont un contenu jaune comme celles de la partie profonde régulière de la trame et se détachent alors particulièrement sur les hyphes sous-hyméniales incolores. Chez *H. coccineus, H. puniceus* et *H. salicis-herbaceae* plusieurs au moins de ces hyphes divergentes nous ont paru se terminer par une extrémité libre au pied de l'hyménium; chez *H. coccineus* nous avons même vu plusieurs de ces hyphes jaunes se terminer dans l'hyménium, leur article terminal arrivant presque au niveau du sommet des basidioles.

Ces particularités structurales de la trame des lames ne sont pas sans rappeler celles que nous avons signalées plus haut dans le revêtement piléique de *H. salicis-herbaceae*. Les hyphes grêles de ce revêtement correspondraient aux hyphes sous-hyméniales; les hyphes de calibre plus important, qui ne s'élèvent pas si haut que les hyphes grêles, aux hyphes divergentes du médiostrate des lames.

La divergence des hyphes latérales du médiostrate de divers *Coccineae*, que nous avons surtout étudiée sur matériel frais, peut éventuellement être reconnue sur exsiccata; sur les coupes d'exsiccata de *H. splendidissimus* la divergence ne peut échapper.

Les chiffres donnés par ARNOLDS pour le rapport longueur : largeur des articles de la trame montrent que ce rapport peut varier beaucoup d'un article à l'autre de la même espèce, par exemple chez *H. miniatus*, de (2)2,7 à 15(18);

Source : MNHN, Paris

ce rapport ne dépasse guère ces deux derniers chiffres dans les *Coccineae* typiques. Même les articles les plus allongés ne sont ni franchement fusiformes ni longuement atténués aux extrémités; ils sont souvent, comme les articles moyennement allongés, cylindracés ou en saucisse, parfois plus ou moins rétrécis au milieu de leur longueur ou plus larges à une extrémité.

Par l'allure de la trame de ses lames *H. vitellinus* est sans doute l'espèce de la subsection *Coccineae* qui s'éloigne le plus des *Conicae*; les articles de la trame y sont en effet à la fois courts, 25-100 µm, et larges de 10-25(35) µm, de sorte que le rapport longueur : largeur oscille, pour la plupart d'entre eux entre 2,5 et 5 selon ARNOLDS; d'après nos observations sur des exsiccata de ORTON nombre de ces articles ne sont pas cylindracés; beaucoup sont enflés-vésiculeux, ventrus, piriformes, étranglés entre deux moitiés très renflées, quelques uns même parfois subglobuleux, de sorte que la trame peut paraître subcelluleuse au faible grossissement.

A l'opposé se situent des espèces qui possèdent dans la trame de leurs lames des articles beaucoup plus allongés que dans la plupart des espèces de *Coccineae*.

Les articles de la trame des lames de *H. helobius* Arnolds mesurent, selon l'auteur de l'espèce (67) 98-670 (710) × 8-37 µm et, si certaines hyphes de cette trame se présentent comme des chaines d'articles cylindriques, aux extrémités arrondies, comme chez la plupart des *Coccineae*, les plus longs articles de la trame sont souvent plus ou moins atténués en pointe à l'extrémité, un peu comme des articles de *Conicae*. Pourtant, par son port et par son chapeau squamuleux, aux hyphes superficielles de grande largeur (6-12 µm), cette espèce est un *Squamulosi* typique, qui a dû être souvent confondu avec *H. miniatus*. L'étude des exsiccata communiqués sous l'étiquette *H. mollis* soit par MOSER, soit par ORTON, suggère que ces *H. mollis* sont des synonymes de *H. helobius*, ce que ARNOLDS pensait déjà pour le *mollis* de MOSER. Ce dernier auteur a souligné l'extraordinaire fragilité de ce champignon qui, selon nous, est sans doute due, au moins en partie, aux grandes dimensions de ses articles fondamentaux.

En dehors des *Squamulosi*, si les articles de la trame des lames sont toujours peu allongés chez les *Coccineae* à stipe sec, la longueur de ces articles peut varier beaucoup d'une espèce à une autre chez les *Coccineae* à stipe visqueux.

D'après nos mesures sur exsiccata traités par la potasse, elle ne dépasse guère 50 à 150 µm, sur notre matériel de *H. reai*, sur les exsiccata étiquetés par ORTON *H. glutinipes*, *H. insipidus*, *H. subminutulus* et sur le lot communiqué par SMITH sous le nom *H. ceraceus*. Nous avons trouvé des articles sensiblement plus longs, 60-220 µm, sur du matériel étiqueté *H. citrinus* par ARNOLDS, et des articles beaucoup plus longs, 65-90-290-425 µm, dans une récolte personnelle rapportée à *H. glutinipes*, comme dans des récoltes rapportées à *H. glutinipes* par WATLING et à *H. ceraceus* par HENDERSON ou par WATLING.

Dans tous ces champignons à longs articles ceux-ci ne sont pas cylindracés, en saucisse; ils sont, soit fusiformes, soit cylindracés sur une grande longueur, mais alors à extrémités atténuées, souvent longuement atténuées, la structure

Source : MNHN, Paris

se rapprochant de celle des *Conicae*.

D'une façon générale les spores d'une sporée sont en majorité uninucléées chez les *Coccineae* autres que les *Squamulosi*; sont du moins dans ce cas, d'après nos observations sur exsiccata : *H. acutopuniceus, H. aurantiosplendens, H. ceraceus, H. citrinus, H. coccineus, H. glutinipes, H. insipidus, H. marchii* sensu Haller et sensu Smith, *H. parvulus, H. puniceus, H. quietus, H. reai, H. salicisherbaceae, H. splendidissimus, H. subceraceus, H. subminutulus, H. vitellinus*.

Chez les *Squamulosi*, suivant les espèces, dominent dans une sporée, soit les spores à un noyau, soit les spores binucléées.

Les spores uninucléées dominent chez *H. miniatus* sensu ORTON et sensu ARNOLDS, *H. miniatus*, f. *longipes, H. mollis* sensu ARNOLDS (var. de *H. miniatus), H. phaeococcineus, H. strangulatus, H. turundus* sensu MOSER et sensu ARNOLDS.

Les spores binucléées dominent chez *H. cantharellus, H. coccineocrenatus, H. helobius, H. marchii* sensu ORTON et sensu REID, *H. squamulosus, H. substrangulatus, H. turundus* sensu HESLER-SMITH.

Si, dans l'ensemble des *Coccineae*, la série *Squamulosi* paraît fort évoluée par le pourcentage élevé d'espèces à spores binucléées, elle nous paraît également évoluée par la structure de la surface du chapeau, qui ne compte que peu ou pas d'hyphes grêles comparables par leur forme et leur calibre à des hyphes mycéliennes. Selon ARNOLDS, le rapport longueur : largeur des basides est compris, pour la plupart des espèces, dans la gamme (8,7)-8,6 à 3,8(3,6), gamme qui empiète largement sur celle des *Camarophyllus*, tout en étant nettement décalée vers les faibles valeurs; il est satisfaisant de constater que *H. helobius*, particulièrement évolué par les grandes dimensions de nombreux articles de la trame des lames et par la présence de deux noyaux dans les spores a les basides encore plus trapues en moyenne que celles des autres *Squamulosi* : rapport longueur : largeur = (5,5)-5,2-3,5(-3,2) selon ARNOLDS.

Pour nombre de *Coccineae* autres que les *Squamulosi* le rapport longueur : largeur des basides se situe dans la gamme (11)-8,9-3,8(-3,6), peu différente de celle qui convient à la plupart des *Squamulosi*; il est remarquable que celles des espèces à stipe visqueux aberrantes par la structure de la trame des lames n'aient pas de basides élancées, le rapport longueur : largeur étant de 5,6-4(-3,9) pour *H. citrinus*, (4,6)-4,5-4(-3,5) pour *H. vitellinus*, toujours selon ARNOLDS.

Par l'abondance des hyphes filiformes-grêles dans le revêtement piléique comme par la nette dominance des spores uninucléées dans toutes les espèces examinées, l'ensemble des *Coccineae* autres que les *Squamulosi* paraît nettement plus primitif que cette dernière série.

L'origine de la subsection *Conicae* doit être recherchée, non parmi les *Squamulosi*, ensemble évolué d'espèces ayant un port tout à fait différent, mais parmi les autres *Coccineae* restées relativement primitives. Plusieurs de ces

Source : MNHN, Paris

Coccineae rappellent d'ailleurs les *Conicae* par leur port et leurs lames ventrues, notamment *H. acutopuniceus, H. puniceus* et *H. splendidissimus*; ce n'est cependant pas au niveau de ces grosses espèces à stipe sec que les *Coccineae* passent aux *Conicae*; la brièveté des articles de la trame de leurs lames les sépare très franchement des *Conicae*. C'est au niveau d'espèces de petite taille et à stipe visqueux que les *Coccineae* se rapprochent le plus des *Conicae*. Comme on l'a vu plus haut, si certains de ces *Coccineae* à stipe visqueux ont les articles fondamentaux des lames peu allongés, comme ceux des *Coccineae* à stipe sec, d'autres ont une trame dont la structure rappelle beaucoup celle des *Conicae* par la grande longueur et la forme des articles fondamentaux. La ressemblance est telle entre le *Conicae* à stipe visqueux *H. chlorophanus* et le champignon que nous rapportons aujourd'hui à *H. glutinipes*, que, lors de la récolte que nous en fîmes, en compagnie de J. FAVRE, nous étions d'accord pour considérer qu'il ne s'agissait que d'une forme mineure de *H. chlorophanus*; c'est seulement l'an dernier que le dénombrement des noyaux des spores de nos exsiccata d'*Hygrocybe* nous a permis de déceler cette confusion; alors que les spores sont binucléées chez *H. chlorophanus* comme chez la plupart des autres *Conicae*, elles sont uninucléées chez *H. glutinipes* comme chez tous les *Coccineae* autres que les *Squamulosi*.

BIBLIOGRAPHIE

ARNOLDS E., 1974 – Taxonomie en Floristiek van *Hygrophorus*, subgenera *Hygrotrama, Cuphophyllus* en *Hygrocybe* in Nederland. Rijksherbarium, Leiden. Thèse inédite.

BESL H., BRESINSKY A. & KRONAWITTER I., 1975 – Notizen über Vorkommen und systematische Bewertung von Pigmenten in Höheren Pilzen. *Zeitschr. Pilzk.*, 41 : 81-98.

DURAND N., 1960 – Recherches caryologiques sur l'hyménium des Agaricales : Bolétacées, Cantharellacées, Hygrophoracées, Pleurotacées. Dipl. Et. Sup. Lyon, 98 p., 17 pl. (inédit).

HALLER R., 1956 – Beitrag zur Kenntnis der schweizerischen Hygrophoraceae. *Schweiz. Zeitschr. Pilzk.* 34 : 177-180.

HESLER L. R. & SMITH A. H., 1963 – North american species of *Hygrophorus*, 416 p., Knoxville.

KUHNER R., 1945 a – Nouvelles recherches sur les divisions nucléaires dans la baside et les spores des Agaricales. *C. R. Acad. Sci.*, 220 : 618-620.

KUHNER R., 1945 b – Le problème de la filiation des Agaricales à la lumière de nouvelles observations d'ordre cytologique sur les Agaricales leucosporées. *Bull. Soc. Linn. Lyon* 14 : 160-169.

KUHNER R., 1958 – Le comportement nucléaire dans les articles du stipe des Agarics et des Bolets. *Ann. Univ. Lyon, Sc. Nat.* 10 : 5-20.

MOSER M., 1967 – Beitrag zur Kenntnis verschiedenen Hygrophoreen. *Zeitschr. Pilzk.* 33 : 15-16.

Source : MNHN, Paris

ORTON P.D., 1960 — in Dennis R.W.G., Orton P.D. et Hora F.B. New Check list of British Agarics and Boleti. Part III. Notes on genera and species in the list. *Trans. Brit. Myc. Soc.* 43, 2 : 159-439.

REID D.A., 1968 — Coloured Icones of rare and interesting Fungi. Part 3 : 5-8, pl. 18. Suppl. to *Nova Hedwigia* 15.

Source : MNHN, Paris

ULTRASTRUCTURE, CYTOCHIMIE ET MICRODISSECTION DE LA PAROI DES HYPHES ET DES PROPAGULES EXOGENES DES ASCOMYCETES ET BASIDIOMYCETES

par O. REISINGER, E. KIFFER, F. MANGENOT* & G. M. OLAH**

INTRODUCTION

Pendant la dernière décade, de nombreux travaux ont été consacrés à l'étude ultrastructurale et chimique de la paroi des Asco- et Basidiomycètes, constituée essentiellement d'un complexe chitine-glucane (BARTNICKI-GARCIA 1968). Une partie de ces travaux avait une orientation taxonomique et en particulier chez les Champignons Imparfaits, où ils tentaient de vérifier les critères supragénériques nouveaux basés sur la diversité de l'ontogénie conidienne. Aussi dès le départ, les résultats ultrastructuraux obtenus tenaient compte de l'âge relatif des organes asexués examinés, formés dans des conditions définies, et autorisaient alors une interprétation dynamique de la mise en place des constituants importants.

Il n'en était pas de même dans le cas des Basidiomycètes où, d'une manière générale, l'étude ultrastructurale visait à confirmer et affiner des données obtenues à l'aide du microscope photonique concernant la stratification de l'enveloppe sporale. L'utilisation d'échantillons d'herbier et la transposition de quelques techniques d'usage courant dans la systématique des Basidiomycètes (traitement à chaud par les bases par exemple) ont abouti à la reconnaissance d'un nombre variable de sous-unités pariétales suivant les groupements systématiques ou même la méthodologie employée.

L'existence de ces deux optiques de travail et l'absence d'une nomenclature universellement acceptable, donc le caractère subjectif des interprétations rendent encore très délicate la comparaison générale entre la structure de l'en-

* Université de Nancy I. Laboratoire de Botanique et de Microbiologie, Centre de 2è Cycle, Case officielle n° 140, 54037 Nancy-Cedex. France.

** Université Laval, Faculté des Sciences de l'Agriculture et de l'Alimentation, Département de Phytologie, Cité Universitaire, Québec G1K 7P4. Canada.

Source : MNHN, Paris

veloppe cellulaire des conidies et des basidiospores. Ces deux types de propagules, contrairement aux ascospores et sporangiospores, sont cependant des organes exogènes, et pourraient de ce fait montrer des points de convergence importants.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. MATÉRIEL FONGIQUE

Les différentes espèces de Champignons Imparfaits utilisés dans cette étude sont généralement cultivées à la température du laboratoire soit sur milieu solide soit en milieu liquide agité ou stationnaire. Le substrat employé est toujours l'extrait de malt à la concentration de 1,5%.

Les fructifications des Basidiomycètes sont récoltées dans la nature et soumises immédiatement à l'étude.

2. MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

Pour le Microscope Électronique à Transmission (MET) les échantillons prélevés à différents stades de développement sont fixés essentiellement par l'acide osmique (2%) pendant 90 minutes. A titre de comparaison quelques fixations au permanganate (1,5%) seul, ou selon le protocole de HAMMILL (1971), sont également réalisées. Après l'inclusion dans l'Epon ou dans l'Araldite, les coupes fines obtenues à l'aide d'un couteau de diamant sont contrastées au citrate de Plomb (REYNOLDS 1963) ou suivant la technique de THIERY (1967), proposée pour la mise en évidence des substances de nature polysaccharidique.

L'examen est réalisé avec un SIEMENS ELMISKOP 101 réglé à 60 ou à 80 kV.

Pour le Microscope Électronique à Balayage (MEB) le matériel fongique déshydraté naturellement ou lyophilisé, disposé sur les porte-objets est métallisé à l'or-palladium.

3. MICRODISSECTION BIOLOGIQUE

Le principe consiste à soumettre le champignon à l'action de populations microbiennes naturelles ou sélectionnées. Des chaînes alimentaires complexes incluant des éléments de la faune (microarthropodes détritiicoles ou mycophages) sont également utilisées dans certains cas. Par des examens périodiques il est possible de suivre les altérations ultrastructurales de la paroi fongique et de connaître ainsi la résistance des différentes couches constitutives.

Nous pouvons distinguer ici 4 cas.

Source : MNHN, Paris

a) Observation des débris végétaux en décomposition. On sait que ce type de matériel est dégradé dans la nature par vagues successives de microorganismes. Les premiers colonisateurs, généralement les champignons, sont à leur tour attaqués par les bactéries (KILBERTUS & REISINGER 1975). L'étude au MET révèle alors des étapes d'altération successives en fonction de la résistance des différentes sous-unités de la paroi fongique. Malheureusement l'identité du champignon ne peut pas être définie par cette méthode. Celle-ci permet cependant de comparer l'évolution des enveloppes cellulaires mélanisées et apigmentées.

b) Le matériel fongique produit au laboratoire est soumis à l'action de la flore tellurique suivant la technique des pièges (REISINGER & KILBERTUS 1974, HARRANGER 1975, SOKOLSKI et al. 1976). L'étude de prélèvements espacés dans le temps permet de suivre la dégradation de la paroi fongique des cellules préalablement tuées ou vivantes, mais subissant alors la fongistase ou un phénomène analogue (HARRANGER 1975).

c) Le champignon est consommé par un élément de la faune; soit à l'état de mycélium libre dans le cas de l'acarien *Tyrophagus putrescentiae* (REISINGER 1972) soit en même temps que d'autres substances dans le cas des larves xylophages d'*Oryctes rhinoceros*. Lors de l'ingestion le matériel subit des altérations mécaniques plus ou moins importantes en fonction de la taille de la cellule fongique et des pièces buccales de l'animal (REISINGER 1972). Il est ensuite soumis à l'action du suc digestif et des bactéries intestinales dont l'intervention peut se prolonger longtemps dans les pelotes fécales.

d) Il est enfin possible de suivre les phénomènes autolytiques comme celui des carpophores des Coprins qui libèrent lors de la déliquescence un certain nombre d'enzymes (ITEN & MATILE 1970), dont l'action est différente sur la paroi mélanisée des basidiospores et sur celle apigmentée des hyphes (PICHE et al. 1976).

4. MICRODISSECTION CHIMIQUE ET ENZYMATIQUE

Des parois fongiques isolées et purifiées sont traitées soit par des solvants inorganiques (HCl, NaOH, etc. .) ou organiques (éthylènediamine), soit par le complexe enzymatique d'*Helix pomatia* (Hélicase).

Les substances mises en solution sont identifiées chimiquement et les résidus examinés au MET (BONALY & REISINGER 1971, REISINGER & BONALY 1972, CONIORDOS & TURIAN 1973, SCHRANTZ & BOISSIERE 1974, BERTHE et al. 1976, MICHALENKO et al. 1976).

Par la modification de la concentration ou de la durée d'action du solvant il est possible d'obtenir des renseignements sur la localisation des constituants importants de la paroi. Il faut noter cependant que ces résultats doivent être interprétés avec précaution. En effet lors de la dissolution complète d'une couche on est certain que ses composants se trouvent bien dans le surnageant,

Source : MNHN, Paris

mais on ne sait pas si des produits d'autres couches à charpente fondamentale apparemment inaltérée n'ont pas libéré des substances supplémentaires, faiblement polymérisées.

RÉSULTATS

Il a déjà été montré et vérifié chez plusieurs espèces que la paroi des Champignons Imparfaits se compose essentiellement de trois sous-unités distinctes par l'origine, l'évolution et l'ultrastructure (REISINGER 1972, MANGENOT & REISINGER 1976).

Devant les difficultés que nous avons rencontrées pour appliquer à ces sous-unités la terminologie préalablement proposée d'après des observations au microscope photonique (NICOT 1958, CHADEFAUD 1969) nous avons préféré les désigner par les lettres A, B ou C (REISINGER & GUEDENET 1968, REISINGER 1972, MANGENOT & REISINGER 1976).

Nous rappellerons ici les caractéristiques essentielles de ces 3 couches et complèterons les données bibliographiques par des résultats récents. Nous montrerons ensuite que la paroi des basidiospores ne semble pas différer de celle des conidies dans nos conditions opératoires.

1. LA COUCHE EXTERNE (couche A)

A quelques exceptions près, sur lesquelles nous reviendrons plus loin, l'enveloppe cellulaire des champignons est toujours couverte extérieurement par une formation dont la structure peut être variable. Nous reconnaissons ainsi une couche A qui peut revêtir l'aspect, soit d'une pellicule superficielle, soit d'une zone mucilagineuse.

A. Observations ultrastructurales.

1) La pellicule

La couche A sous forme de mince pellicule, dense aux électrons et de structure amorphe couvre tous les organes extramatriciels directement en contact avec l'air ambiant (fig. 4, 5, 15, 19, 20, 22, 23, 24, 28, 39). Comme le montre la figure 1 elle est probablement issue de la condensation de produits élaborés par les jeunes cellules aériennes. Dans certains cas elle est parfaitement appliquée contre la couche sous-jacente (B) dont elle devient difficile à distinguer surtout lorsque B est mélanisée (fig. 5, 9, 31, 36). Dans d'autres cas il existe entre A et B des espaces plus ou moins remplis d'exsudats (fig. 4, 5, 15, 36, 39). Les décollements importants seront visibles au microscope photonique ou au MEB (fig. 2) comme des échinulations ou des verrues. Rappelons encore que tous les intermédiaires existent entre paroi lisse et verruqueuse et entre orne-

Source : MNHN, Paris

mentations partiellement vides (verrues) ou complétement remplies (échinulations) d'exsudats condensés (REISINGER & KIFFER 1974).

2) La zone mucilagineuse

Dans le cas des organes intramatriciels ou obtenus en milieu liquide, la couche A typique (pellicule) est toujours absente. Elle peut également faire défaut : ponctuellement sur l'appareil externe au niveau des gouttelettes d'exsudation et de condensation, ou totalement autour des conidies de *Phialophora richardsiae*, réunies en fausses têtes (REISINGER 1972, OLAH & REISINGER 1974a).

Elle est alors généralement remplacée par une zone de mucilage de structure variable (fig. 7, 8, 10, 11, 35). Sur de tels organes, placés au contact de l'air, il apparaît après 1 à 5 jours une pellicule externe condensée, couvrant la zone mucilagineuse (cf. fig. 1 in REISINGER & BONALY 1972).

La zone mucilagineuse généralement fibrillaire (fig. 7, 10, 11, 35) ou parfois spongieuse (fig. 13, 14) peut contenir également des granules de mélanine (fig. 17) libérés spontanément à partir de la couche B (REISINGER 1969, 1972, REISINGER & KILBERTUS 1972, 1973, WHEELER& TOLMSOFF 1976).

Suivant les conditions de culture ou l'espèce, cette zone externe peut être très diffuse ou apparemment absente (fig. 3, 6, 30, 33). Le mucilage peut alors être complétement dispersé dans le milieu liquide qu'il rend visqueux, comme c'est le cas chez *Aureobasidium pullulans* (REISINGER & KILBERTUS 1972).

Les filaments fongiques développés dans les végétaux présentent également une zone semblable et d'importance variable (fig. 8). Dans les structures agrégées naturellement (corémies, pycnides, etc. . .) ou artificiellement (sphères mycéliennes en milieu liquide agité) les éléments constitutifs sont apparemment cimentés par le mucilage parfois fortement mélanisé (fig. 12, 29).

Il en est de même dans le réseau de Hartig des ectomycorrhizes (KIFFER 1974, STRULLU 1974). Entre l'hyphe et la cellule végétale il s'élabore ainsi une formation semblable à une zone mucilagineuse partiellement condensée (= zone d'apposition de STRULLU 1974).

Notons encore que la culture en anaérobiose, malgré son influence sur le métabolisme cellulaire, ne semble pas modifier la structure de la zone mucilagineuse des hyphes de *Verticillium* sp. (fig. 30), celle-ci restant aussi réduite qu'en aérobiose (fig. 33).

B. Recherches des substances de nature polysaccharidiques

La mise en évidence de ces substances révèle une réaction semblable pour la pellicule et pour la zone mucilagineuse chez *Phialophora richardsiae* (OLAH & REISINGER 1974a). Il en est de même chez *Trichocladium asperum* où les fibrilles du mucilage hyphal sont matérialisées par une série de sites réactifs (fig. 35) semblables à ceux existant dans la pellicule autour des conidies (fig.

Source : MNHN, Paris

36, 39). Le matériau remplissant l'espace des ornementations présente également une réaction positive intense (fig. 36, 39). Il faut cependant remarquer que la nature fibrillaire de ces deux derniers produits (couche A et matériau des ornementations) n'est pas toujours évidente, comme s'il s'agissait de polysaccharides plus faiblement polymérisés que ceux des zones mucilagineuses.

La couche A avec toutes ses caractéristiques cytochimiques existe également chez les basidiospores (OLAH & REISINGER 1974 b). Ces dernières se forment cependant dans un milieu ambiant fortement humide. Aussi autour de certaines spores la couche A est remplacée par une mince zone de mucilage (fig. 37) de nature fortement polysaccharidique (fig. 38).

C. Dissection biologique

Dans le cas des conidies dont la maturation et la libération font intervenir une lyse (MANGENOT & REISINGER 1976) partielle de la paroi (Ex: *Stephanosporium cerealis*) la couche A du filament sporogène ne subit pas d'altérations notables (fig. 24). De même elle reste inaltérée autour des cloisons schizogènes permettant la libération de certaines propagules (fig. 19). D'ailleurs la plupart des hiles sont formés par les débris annulaires de la couche A (fig. 22).

Dans le cas de la lyse bactérienne, les procaryotes se développent autour des organes fongiques. En dessous de leur point de contact avec la paroi, la couche B est profondément altérée sans que la couche A paraisse modifiée (REISINGER & KILBERTUS 1973). Il en est de même pour les hyphes entourées d'une zone mucilagineuse (HARRANGER 1975). Une ou deux bactéries pénètrent ensuite dans la cellule par une minuscule perforation (WONG & OLD 1974) de la couche A. Tout au long de la biodégradation bactérienne la couche A et la zone mucilagineuse (fig. 29) sont parmi les composants fongiques les plus résistants. Le déroulement du phénomène est inverse dans le cas où l'invasion bactérienne est précédée d'un développement de champignons tels que *Penicillium* spp. et *Aspergillus* spp. pouvant dégrader facilement les exsudats mucilagineux (REISINGER & KILBERTUS 1973).

D. Dissection chimique et enzymatique

La pellicule et la zone de mucilage se conservent parfaitement (fig. 7) lors de l'isolement et de la purification des parois, nécessaires à l'analyse chimique. Pour cette dernière on utilise habituellement du matériel fongique obtenu en milieu liquide, aussi possède-t-on des données concernant surtout la zone mucilagineuse. Cette dernière, chez *Aureobasidium pullulans*, est formée essentiellement de pullulane, un alpha-D-glucane linéaire (ASPINAL 1970). Chez *Schizophyllum commune* elle est constituée par des chaînes de 1,3 béta-D-glucosyle (WESSELS et al. 1972) et chez *Agaricus bisporus* par du béta-glucane (MICHALENKO et al. 1976). Chez *Dendryphiella vinosa* et chez d'autres Champignons Imparfaits elle apparaît comme un complexe de peptido-glucane-galactosamine (REISINGER & BONALY 1972, BONALY 1972).

Source : MNHN, Paris

Il semblerait donc que la couche A contienne chez toutes les espèces examinées une bonne proportion de polysaccharides. En plus de ce constituant majeur, des pigments mélaniques ont pu être également reconnus dans la couche A des conidies de *Trichoderma viride* (BENITEZ et al. 1976).

Chez les conidies des *Pithomyces* spp. la surface est couverte par des depsipeptides (BISHOP et al. 1965, RICHES et al. 1967).

II. LA COUCHE FONDAMENTALE (B)

A. Observations ultrastructurales et recherches des substances de nature polysaccharidique.

La couche fondamentale ou couche B est présente dans la paroi de tous les organes fongiques. Elle est élaborée par l'apex hyphal ou par le primordium sporal, et subit probablement une maturation rapide. A l'état jeune elle est très transparente aux électrons (fig. 1), la technique de THIERY (1967) peut cependant y faire apparaitre une organisation intime (fig. 30, 33). Dans le cas des hyphes jeunes obtenues en milieu liquide et dépourvues d'une zone mucilagineuse structurée la couche B apparaît comme un assemblage inorganisé de points denses aux électrons (fig. 6). Ce sont probablement ces derniers qui réagissent comme des sites positifs lors de la mise en évidence des substances polysaccharidiques (fig. 21) chez *Beauveria bassiana*. Il est à noter que ces sites positifs se dispersent dans le milieu liquide environnant et peuvent être alors captés par des feuillets d'argile. Il n'est donc pas certain que dans leur totalité ils fassent partie intégrante de la couche B, mais ils peuvent représenter simplement des molécules polysaccharidiques destinées à former la couche A et migrant à travers la couche B.

C'est à une conclusion semblable que nous amène l'examen de la maturation conidienne de *Trichocladium asperum* Chez cette espèce les conidies en formation semblent posséder une couche B dont l'intensité de la réaction diminue avec l'âge (fig. 39, 36). Quelle que soit la valeur de cette hypothèse, que nous vérifions actuellement, la paroi fondamentale semble posséder régulièrement des constituants de nature polysaccharidique (OLAH 1972, OLAH & REISINGER 1973, 1974 a, 1974 b, REISINGER & OLAH 1974, HARRANGER 1975). Ces derniers présentent un arrangement linéaire dans la coupe tangentielle des hyphes de *Pyrenochaeta lycopersici* (fig. 16).

L'apparence striée de la couche B ne devient donc nette qu'avec l'âge (fig. 4, 9, 11, 13, 15, 17). Chez les champignons fuligineux les pigments sombres, qualifiés de mélanines, se déposent dans cette couche de façon centripète (fig. 4, 5, 17, 20, 23). Il se définit alors deux zones habituellement bien distinctes dont l'importance respective varie avec l'espèce et l'âge de la cellule; B_2, mélanisée, à l'extérieur et B_1, apigmentée, vers l'intérieur (fig. 4, 5, 17, 19). Le dépôt des pigments mélaniques peut s'effectuer de différentes manières (REISINGER 1972). Chez *Dendryphiella vinosa* il se réalise de façon régulière (fig. 4)

Source : MNHN, Paris

ou plus ou moins anarchique (fig. 17). Dans certains cas et certaines espèces la mélanisation tend à être totale (fig. 5, 24, 34, 37, 38).

Un cas bien particulier est celui de *Stephanosporium cerealis* où la mélanine se dépose dans la couche B suivant une bande équatoriale (REISINGER 1972, MANGENOT & REISINGER 1976).

La technique de THIERY (1967) appliquée sur des parois où les zones B_2 et B_1 sont différenciées révèle une plus grande densité de la couche initialement mélanisée (B_2). Cette différence de densité est probablement due (fig. 16) comme chez *Phialophora richardsiae* (OLAH & REISINGER 1974 a), à la présence des pigments sombres, naturellement opaques aux électrons (REISINGER 1972), et non à une accumulation différentielle des polysaccharides.

La mise en évidence des substances protéiniques (cf. OLAH & REISINGER 1974 a) montre une réaction aussi intense dans la zone B_1 que dans la zone B_2. Il est donc possible que les précurseurs mélaniques migrant à travers la zone hyaline B_1 réagissent de la même manière que la mélanine elle-même (OLAH & REISINGER 1974 a). D'ailleurs chez le champignon hyalin, *Beauveria bassiana*, la couche B des conidies ne se révèle que très peu par la technique de Gomori-Swift (SWIFT 1968). Ceci semblerait indiquer l'absence, non seulement de mélanine, mais aussi de son précurseur (REISINGER & OLAH 1974 a). Il serait d'ailleurs intéressant de vérifier cette hypothèse par l'examen de plusieurs espèces de Mucédinées.

Notons encore comme caractéristique de la couche fondamentale son aptitude à l'épaississement (fig. 20, 22, 23), particulièrement nette chez les chlamydospores et aleuries (KIFFER et al., 1971, REISINGER 1970 b, MANGENOT & REISINGER 1976) et chez les basidiospores (fig. 34, 37, 38).

B. Dissection biologique, enzymatique et chimique

L'effet protecteur ou inhibiteur enzymatique des mélanines fongiques a déjà été démontré plusieurs fois (SEIJI & IWASHITA 1965, KUO & ALEXANDER 1967, BLOOMFIELD & ALEXANDER 1967, HURST & WAGNER 1969, BULL 1970, CHU & ALEXANDER 1972). Il est donc parfaitement normal que les divers types de dissection aboutissent à la mise en évidence d'une résistance élevée des régions pigmentées de la zone B_2. Ainsi, lors de la différenciation des conidies de *Stephanosporium cerealis*, la couche B est lysée à l'exception de la bande équatoriale décrite plus haut (fig. 24). La mélanisation protège donc aussi la paroi contre les enzymes endogènes. Cette protection est également très évidente ches les champignons fuligineux soumis à l'action lytique d'une population complexe de microorganismes telluriques. Il est en effet bien connu que la dégradation des parois de ces champignons s'effectue de l'intérieur vers l'extérieur (REISINGER 1972, REISINGER & KILBERTUS 1973, 1974). Les Bactéries ayant pénétré dans la lumière des cellules s'y développent et envahissent les loges successives par migration transseptale (HARRANGER 1975). Elles métabolisent d'abord la partie hyaline de la couche

Source : MNHN, Paris

B (fig. 29) et s'attaquent seulement ensuite à la zone mélanisée. La dégradation de cette dernière est d'ailleurs lente et se matérialise par la libération des granules de mélanine (fig. 18) qui s'accumulent dans les microhabitats (REISINGER & KILBERTUS 1973). Les débris des parois conidiennes de *Dendryphiella vinosa* examinées après passage dans une chaîne alimentaire complexe (suc digestif d'un acarien et action de la microflore bactérienne associée) apparaissent dépourvus de la zone B_1. La charpente fondamentale de la zone B_2 est également altérée dans les endroits faiblement mélanisés (fig. 32). Il en est de même pour la paroi des basidiospores (SOKOLSKI et al. 1976, PICHE et al. 1976) dont la fraction mélanisée apparaît la plus persistante (fig. 31).

C'est à des conclusions semblables que l'on arrive par la dissection chimique des parois noires, dont les résidus sont constitués pour une bonne partie par les produits pigmentés (BONALY 1972, BERTHE et al. 1976, HARRIS & TABER 1973, ELLIS & GRIFFITHS 1975).

Les résultats obtenus par étude comparative d'une souche sauvage et de son mutant «albinos» de *Drechslera sorokiniana* apparaissent cependant quelque peu différents. Il semble que l'incrustation mélanique rend la paroi plus sensible aux solvants chimiques, alors que par application de préparations enzymatiques on aboutit à une meilleure solubilisation de la paroi du mutant «albinos» (ALRIKAB, comm. pers.). On pourrait donc admettre que chez ce champignon, la mélanine rend labiles les liaisons chimiques mais protège, par son action inhibitrice, la charpente fondamentale contre l'action enzymatique.

Il n'en reste pas moins que la présence des pigments sombres détermine deux zones structuralement et chimiquement distinctes dans la couche B. Aussi certains auteurs ont-ils défini, en se basant sur la différence structurale seule, les parois primaire et secondaire. Dans l'état actuel des connaissances il nous semble difficile d'accepter cette opinion. Nous avons déjà montré en effet que la zone B_2 se développe aux dépens de la zone B_1. Donc la formule $B_1 + B_2 = B$ peut définir cette relation à chaque instant et pour chaque espèce. De plus, lors de la conidiogenèse, par exemple chez les Porosporés, c'est la partie hyaline (paroi secondaire) qui entoure le primordium et du fait de sa mélanisation ultérieure deviendrait la paroi primaire.

Quant à la composition chimique de la couche B, sa charpente fondamentale semble être constituée par un polymère de N-acétylglucosamine (chitine), plus ou moins profondément liée à d'autres substances simples ou polymérisées (BONALY 1972, BONALY & REISINGER 1972, BERTHE et al. 1976, BARRAN et al. 1975, JONES 1970, MICHELL & SCURFIELD 1967, APPLEGARTH & BOZOIAN 1969, HARRIS & TABER 1973, ESQUERRE-TUGAYE & TOUZE 1971).

Source : MNHN, Paris

III. LA COUCHE INTERNE (C)

A. Observations ultrastructurales

Cette couche de structure fibrillaire n'a été décrite que chez certaines conidies (REISINGER & GUEDENET 1968, REISINGER 1972, MANGENOT & REISINGER 1976). Son équivalent peut cependant être retrouvé chez les basidiospores (fig. 34, 37, 38).

La couche C, se développant lors de la maturation sporale, entre le plasmalemme et la paroi fondamentale, peut être uniforme ou présenter une différenciation généralement localisée au niveau des cavités intercellulaires des cloisons. C'est le cas notamment des *Drechslera* spp. (REISINGER 1970 a). La figure 15 représente la paroi d'une conidie de *D. spicifera* où l'on reconnaît en dessous de la couche B deux unités structuralement distinctes C_1 et C_2. La couche C_1 de nature probablement mucilagineuse peut gonfler en présence d'eau et devient alors spongieuse (fig. 25). Elle est très importante au niveau des cloisons et pénètre plus ou moins profondément dans le septum de part et d'autre de la zone de clivage (fig. 26). Elle s'étend de manière irrégulière entre les couches B et C_2, apparaissant alors sur les coupes sous forme d'îlots d'importance variable (fig. 27).

Lorsque les loges sont libérées (LUTTRELL 1963) par rupture provoquée de l'enveloppe conidienne générale (couche A et B) c'est probablement la couche C_1 qui joue le rôle de lubrifiant. Les cellules expulsées, entourées de l'élément C_2, sont plus ou moins séparées suivant la profondeur de pénétration de la couche C_1 dans la cloison.

Du point de vue cytochimique on ne possède pas encore de données concernant la couche C. Les études actuellement en cours préciseront sa nature chez différents Hyphomycètes. Il semble cependant que le début de son élaboration coincide avec l'arrêt de la mélanogénèse. Son équivalent chez les basidiospores examinées semble être faiblement polysaccharidique et protéinique (OLAH & REISINGER 1974 b).

La couche C_1, souvent absente ou très réduite, fait penser à une interface plus ou moins développée. Elle pourrait être considérée comme l'équivalent de la zone mucilagineuse décrite précédemment, c'est à dire comme une couche A formée en conditions intramatricielles.

La couche C_2 constitue donc apparemment la véritable couche interne de certaines conidies. Elle est d'apparence striée ou granuleuse (fig. 15, 25, 26, 27) et normalement dépourvue de pigments sombres.

De façon purement hypothétique, on pourrait considérer l'ensemble des couches C comme une véritable paroi. La couche C_1 serait l'équivalent topographique de la zone mucilagineuse et C_2 représenterait la paroi fondamentale (B) peut-être immature. De telles superpositions d'enveloppes complètes existent d'ailleurs dans le cas des hyphes intrahyphales (fig. 9) ou des cellules intracellulaires.

Source : MNHN, Paris

De plus la couche C_2, entourant seule les loges séparées de la paroi conidienne générale par passage à travers le tube digestif d'un acarien, peut subir une mélanisation partielle ultérieure (REISINGER 1972), comme une couche B.

Notons encore la ressemblance structurale entre conidies diplothéquées (possédant la couche C, MANGENOT & REISINGER 1976) et certains mérosporanges (BENJAMIN 1966, YOUNG 1969, DYKSTRA 1974).

Ces considérations viennent à l'appui des hypothèses concernant les relations entre Phycomycètes et Ascomycètes (MANGENOT & REISINGER 1976).

B. Dissection biologique, chimique et enzymatique

Les conidies du mutant «albinos» de *Drechslera sorokiniana*, incubées dans un sol non stérile, présentent rapidement une lyse plus ou moins totale de la couche C_1 (fig. 26, 28). La lyse de la couche C_2 s'effectue comme celle de la couche B après perforation de la paroi et pénétration des bactéries dans les loges à cytoplasme préalablement désorganisé. Elle est cependant plus rapide et peut devenir totale avant même le développement des Procaryotes dans les loges vidées.

Quant à la dissection enzymatique et chimique, il n'existe aucune donnée relative aux conidies diplothéquées. Lors des travaux sur la structure chimique de la paroi des organes aériens de *Drechslera spicifera*, il n'a pas été possible d'estimer les constituants chimiques des couches C_1 et C_2 (BERTHE et al. 1976). Ces dernières sont en effet profondément altérées et dispersées par les techniques d'isolement et de purification, ce qui souligne encore leur fragilité.

IV. LES INTERFACES

Entre les différentes sous-unités de la paroi il peut exister des interfaces plus ou moins développées et caractérisées suivant l'espèce, l'organe, les conditions de culture et les techniques de fixation employées.

Ainsi nous avons considéré précédemment les espaces situés entre les couches A et B, et diversement remplis de matériaux plus ou moins structurés, comme une interface. Par ailleurs l'interface peut se présenter sous forme de lamelle mince couvrant la couche B ou séparant celle-ci de la couche C (fig. 23).

Lors de la maturation conidienne de *Gilmaniella humicola*, une stratification peut également apparaître dans la couche B jeune (fig. 20) après fixation au permanganate, alors qu'après fixation osmique cette couche paraît homogène. De même la ligne de mélanisation peut apparaître comme une interface entre les zones B_1 et B_2.

La zone d'élaboration des produits pariétaux au contact du plasmalemme forme parfois une pellicule bien nette, surtout après fixation au permanganate (fig. 23). Des strates comparables existent égalament chez les basidiospores où elles ont reçu des noms différents.

Source : MNHN, Paris

Il nous semble cependant superflu de tenir compte des interfaces dans l'analyse générale de l'architecture de la paroi. Il suffit en effet de comparer les figures 22 et 23, représentant le même organe mais fixé différemment : dans la figure 23 (fixation au permanganate) il est possible de dénombrer de 6 à 9 strates plus ou moins différentes, alors que dans la figure 22, il n'en existe que 4, toutes pouvant être considérées comme faisant partie d'une des trois couches décrites.

V. LES CLOISONS

Les cloisons des hyphes et des conidies haplothéquées (sans couche C) sont formées par l'invagination de la couche fondamentale B (processus d'euseptation). Elles gardent donc toutes les caractéristiques de cette dernière. Les deux feuillets qui les forment sont cependant séparés par une mince zone transparente aux électrons, la zone de clivage.

Les cloisons des conidies diplothéquées (avec couche C) peuvent être constituées de deux façons différentes :

– Dans le premier cas, après l'invagination de la couche B (processus d'euseptation), chaque loge s'entoure d'une couche C. La cloison est donc formée de part et d'autre de la zone de clivage par les couches B et C.

– Dans le second cas, la cloison est constituée par la juxtaposition de deux couches C (processus de distoseptation) élaborées par les loges successives (REISINGER 1972, MANGENOT & REISINGER 1976).

VI. CICATRICES D'INSERTION, PORES ET FENTES GERMINATIFS

L'uniformité de la paroi sporale est toujours rompue au niveau du hile et chez quelques espèces au niveau des pore ou fente germinatifs. Nous n'insisterons pas sur la diversité de la structure hilaire plus ou moins liée au type d'ontogénie sporale chez les conidies.

Quant aux fentes et pores germinatifs, qui n'existent d'après une première analyse que chez les propagules diplothéquées, leur structure doit être identique d'une espèce à l'autre. En effet c'est la couche B qui fait défaut à ces endroits (fig. 34), où elle est remplacée par un bouchon hyalin structuralement semblable à la couche C (REISINGER 1970 a, b, 1972, GRIFFITHS 1971, 1974, OLAH & REISINGER 1974, MELENDEZ-HOWELL 1966, 1967, 1970, CAPELLANO 1973, BESSON & KUHNER 1972 a, b, STOCKS & HESS 1970, KUHNER 1973). Dans tous les cas la couche A couvre complètement ces structures, protégeant ainsi le contenu cellulaire contre les enzymes microbiennes (PICHE et al. 1976).

Source : MNHN, Paris

CONCLUSIONS, DISCUSSION

L'analyse des résultats ultrastructuraux obtenus dans l'étude de l'ontogénie sporale chez les Champignons Imparfaits a été effectuée très tôt suivant un concept dynamique. On a accordé, en effet, une grande importance dans un but alors purement systématique, à reconnaître l'origine de la paroi conidienne et à suivre son évolution pendant la vie de l'organe. Il est apparu ainsi très rapidement que pour pouvoir effectuer les comparaisons entre les différentes cellules du cycle végétatif et entre les espèces il était nécessaire de recourir à un schéma simplifié de l'organisation de la paroi. Malgré l'absence de références de base et d'une nomenclature universelle, la révision des travaux effectués montre peu de divergences quant au nombre des sous-unités constitutives de l'enveloppe conidienne (MANGENOT & REISINGER 1976). Mises à part des discussions toujours possibles sur une définition de valeur générale, on peut admettre actuellement par le triple critère : origine, ultrastructure et rôle, que la paroi des Champignons Imparfaits est constituée des trois éléments (: couches) définis précédemment.

Dans le cas de la couche B (: couche fondamentale) c'est surtout le critère origine et évolution qui permet sa caractérisation. Il nous paraît en effet inconcevable que ses deux zones issues d'une mélanisation progressive puissent être considérées comme des entités distinctes. D'ailleurs, dans une telle optique, les souches «albinos» ne différant que par l'inaptitude à élaborer des pigments sombres, ne pourraient pas être comparées aux souches sauvages. Il n'en est malheureusement pas de même pour la couche C. Cette dernière, caractéristique des propagules diplothéquées (MANGENOT & REISINGER 1976) est parfois très difficile à reconnaître. Dans quelques genres (*Drechslera, Bipolaris, Helminthosporium, Conoplea*, etc. . .) sa reconnaissance est aisée, grâce à l'existence d'une interface B/C ou d'une ultrastructure particulière. Chez d'autres, sa mise en évidence est délicate ou impossible, par confusion avec la zone non mélanisée de B. Cet état de choses n'est pas dû, pensons-nous, à un défaut de conception, mais à un manque de technique adéquate. Certaines «colorations» cytochimiques pourraient en effet pallier cet inconvénient (REISINGER & OLAH 1974, OLAH & REISINGER 1974 a, b). Il n'en reste pas moins que la mise au point d'une technique, basée peut-être sur l'absence de précurseurs mélaniques dans la couche C, est nécessaire.

Quant à la couche A, apparemment la plus hétérogène du point de vue ultrastructural, son existence a reçu de nombreuses démonstrations. Il est cependant certain que sous sa forme de zone mucilagineuse elle semble bien différente de la pellicule externe formée sur les organes aériens. A ce sujet il semble possible d'accepter définitivement que ce sont les conditions d'humidité qui définissent sa forme et son importance. Son rôle dans la formation des ornementations en présence ou en absence d'eau liquide est actuellement à l'étude. Il en est de même pour l'arrangement fibrillaire de sa surface connu sous le nom de «rodlets» (HESS et al. 1968, HESS & STOCKS 1969, GHIORSE

Source : MNHN, Paris

& EDWARDS 1973, COLE & RAMIREZ-MICHELL 1974, COLE 1973a, b, FLORANCE et al. 1972). Ces derniers n'ont été montrés jusqu'à présent que sur des organes aériens et sur des spores exogènes (conidies et basidiospores), c'est à dire sur des éléments possédant une couche A typique (sous forme de pellicule). Leur existence pourrait donc être liée à une orientation géométrique des fibrilles du mucilage due à l'effet de condensation en position extramatricielle.

Comme nous l'avons montré dans l'exposé des résultats les équivalents des trois couches constitutives de la paroi des Champignons Imparfaits peuvent être reconnus chez les Basidiomycètes. Sans vouloir nier l'importance ponctuelle et systématique de la mise en évidence de nombreuses strates dans l'enveloppe des basidiospores, la généralisation de cette conception nous paraît difficilement applicable. Le cas des conidies de *Gilmaniella humicola* étudié précédemment et bien d'autres expériences de même nature nous incitent à rester prudents. Aussi pensons-nous que pour des comparaisons entre les groupements taxonomiques génériques ou supragénériques, et dans l'état actuel des connaissances, le schéma simplifié de l'architecture de l'enveloppe fongique s'avère encore le plus efficace.

On pourrait même accepter dans cette optique une similitude structurale entre la paroi des Algues filamenteuses et celle des Champignons, chacune étant constituée selon CHADEFAUD (1969) essentiellement par une vagina et une locula. Il reste cependant à établir la correspondance exacte des couches que nous avons définies et de celles reconnues par CHADEFAUD (1960, 1969).

REMERCIEMENTS

L'étude des coupes fines a été réalisée au Laboratoire de Microscopie électronique de l'Université de Nancy I. Nous remercions son Directeur le Professeur G. GRIGNON pour les autorisations et les facilités qu'il nous a accordées. Nous remercions également Mmes M. SIMONETTI et J. CHANEL pour leur collaboration.

BIBLIOGRAPHIE

APPLEGARTH D.B. & BOZOIAN G., 1969 – The cell wall of *Helminthosporium sativum* *Arch. Biochem. Biophys.* 134 : 285-289.

BARRAN L.R., SCHNEIDER E.F., WOOD P.J., MADHOSINGH C. & MILLER R.W., 1975 – Cell wall of *Fusarium sulphureum*. I. Chemical composition of the hyphal wall. *Biochem. Biophys. Acta* 392 : 148-158.

BARTNICKI-GARCIA S., 1968 – Cell wall chemistry, morphogenesis, and taxonomy of fungi. *Ann. Rev. Microbiol.* 22 : 87-108.

BENITEZ T., VILLA T.G. & GARCIA-ACHA I., 1976 – Some chemical and ultrastructural features of conidial wall of *Trichoderma viride*. *Can. J. Bot.* 22 : 318-321.

Source : MNHN, Paris

BENJAMIN R. K., 1966 — The merosporangium. *Mycologia* 58 : 1-42.

BERTHE M.C., BONALY R. & REISINGER O., 1976 — Analyses chimiostructurales sur les parois du champignon *Helminthosporium spiciferum*. *Can. J. Microbiol.* (sous presse).

BESSON M. A. & KUHNER R., 1972 a — La paroi sporique et ses différenciations sommitales chez les Naucoriacées (Agaricales). *C. R. Acad. Sci.*, Paris, D, 274 : 1-3.

BESSON M. A. & KUHNER R., 1972 b — Recherches morphologiques et ontogéniques sur la paroi sporique et le pore germinatif des *Panaeolus* (Fries) Quélet (Agaricales). *C. R. Acad. Sci.*, Paris, D, 274 : 1915-1920.

BISHOP E., GRIFFITHS H., RUSSEL D.W., WARD W. & GARTSIDE R.N., 1965 — Spore surface dipsopeptide in some *Pithomyces* spp. *J. Gen. Microbiol.* 38 : 289-297.

BLOOMFIELD B.J. & ALEXANDER M., 1967 — Melanins and resistance of fungi to lysis. *J. Bacteriol.* 93 : 1276-1280.

BONALY R., 1972 — Études sur la structure glucidique des parois du champignon *Dendryphiella vinosa* (Berk. et Curt.) Reisinger. *Carbohyd. Res.* 24 : 355-364.

BONALY R. & REISINGER O., 1971 — Étude des modifications chimiques et ultrastructurales de la paroi de trois levures du genre *Rhodotorula* cultivées sur deux milieux différents. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, D : 2309-2312.

BULL A.T., 1970 — Inhibition of polysaccharases by melanin. Enzyme inhibition in relation to mycolysis. *Arch. Biochem. Biophys.* 137 : 345-356.

CAPELLANO A., 1973 — Présence d'un pore germinatif chez deux espèces de *Perennispora* (Basidiomycètes, Polyporacées). *C. R. Acad. Sci.*, Paris, D, 277 : 1449-1450.

CHADEFAUD M., 1960 — *Les végétaux non vasculaires. Cryptogamie.* In CHADEFAUD M. & EMBERGER L., Traité de Botanique, Masson et Cie, Paris, Tome I, 1018 pp.

CHADEFAUD M., 1969 — Une interprétation de la paroi des ascospores septées, notamment celle des *Aglaospora* et des *Pleospora*. *Bull. Soc. mycol. Fr.* 85 : 145-157.

CHU S.B. & ALEXANDER M., 1972 — Resistance and susceptibility of fungal spores to lysis. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 52 : 489-497.

COLE G.T., 1973 a — Ultrastructural aspects of conidiogenesis in *Gonatobotryum apiculatum*. *Can. J. Bot.* 51 : 1677-1684.

COLE G.T., 1973 b — Correlation between rodlet orientation and conidiogenesis in Hyphomycetes. *Can. J. Bot.* 51 : 2413-2422.

COLE G.T. & RAMIREZ-MITCHELL R., 1974 — Comparative scanning electron microscopy of *Penicillium* conidia subjected to critical point drying, freeze-drying and freeze-etching. In *Scanning Electron Microscopy*, Part II. Proc. Workshop S.E.M., Chicago, 367-374.

CONIORDOS N. & TURIAN G., 1973 — Recherches sur la différenciation conidienne de *Neurospora crassa*. IV. Modifications chimio-structurales chez le type sauvage et chez deux mutants aconidiens. *Ann. Microbiol.* (Inst. Past.) 124 a : 5-28.

DYKSTRA M.J., 1974 — An ultrastructural examination of the structure and germination of asexual propagules of four mucoralean fungi. *Mycologia* 66 : 477-485.

ELLIS D.H. & GRIFFITHS D.A., 1975 — Melanin deposition in the hyphae of a species of *Phomopsis*. *Can. J. Microbiol.* 21 : 442-452.

ESQUERRE-TUGAYE M.T. & TOUZE A., 1971 — La paroi des conidies de *Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ell. et Holst. *Biochemistry* 10 : 821-827.

FLORANCE E.R., DENISON W.C. & ALLEN J.T.C., 1972 — Ultrastructure of dormant and germinating conidia of *Aspergillus nidulans*. *Mycologia* 64 : 115-123.

GHIORSE W.C. & EDWARDS M.R., 1973 — Ultrastructure of *Aspergillus fumigatus* conidia development and maturation. *Protoplasma* 76 : 49-59.

GRIFFITHS D.A., 1971 — The fine structure of basidiospores of *Paneolus campanulatus* (L.) Fr. revealed by freeze-etching. *Arch. Mikrobiol.* 76 : 74-82.

Source : MNHN, Paris

GRIFFITHS D.A., 1974 – Development and structure of the aleuriospore of *Humicola grisea* Traaen. *Can. J. Microbiol.* 20 : 55-58.

HAMMILL T.M., 1971 – Fine structure of annellophores. *Scopulariopsis brevicaulis* and *S. koningii*. *Amer. J. Bot.* 58 : 88-97.

HARRANGER M.F., 1975 – Décomposition de *Pyrenochaeta lycopersici* dans le sol et les débris de racines : étude ultrastructurale. Thèse de Spécialité, Univ. Nancy I. 93 pp.

HARRIS J.L. & TABER W.A., 1973 – Compositionnal studies on the cell wall of the synnema and vegetative hyphae of *Ceratocystis ulmi*. *Can. J. Bot.* 51 : 1147-1153.

HESS W.M., SASSEN M.M.A. & REMSEN C.C., 1968 – Surface characteristics of *Penicillium* conidia. *Mycologia* 60 : 290-303.

HESS W.M. & STOCKS D.L., 1969 – Surface characteristics of *Aspergillus* conidia. *Mycologia* 61 : 560-571.

HURST H.M. & WAGNER G.H., 1969 – Decomposition of ^{14}C-labelled cell wall and cytoplasmic fractions from hyaline and melanic fungi. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 33 : 707-711.

ITEN W. & MATILE P., 1970 – Role of chitinase and other lyzosomal enzymes of *Coprinus lagopus* in the autolysis of fruiting bodies. *J. Gen. Microbiol.* 61 : 301-309.

JONES D., 1970 – Ultrastructure and composition of the cell walls of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 54 : 351-360.

KIFFER E., 1974 – Étude des champignons mycorrhiziens et de quelques autres souches associées à l'Épicéa en Lorraine. Thèse Doct. Spéc., Univ. Nancy I, 109 pp.

KIFFER E., MANGENOT F. & REISINGER O., 1971 – Morphologie ultrastructurale et critères taxinomiques chez les Deutéromycètes. IV. *Doratomyces purpureofuscus* (Fres.) Morton et Smith. *Rev. Écol. Biol. Sol* 8 : 397-407.

KILBERTUS G. & REISINGER O., 1975 – Dégradation du matériel végétal. Activité in vitro et in situ de quelques microorganismes. *Rev. Écol. Biol. Sol* 12 : 363-374.

KUO M.J. & ALEXANDER M., 1967 – Inhibition in the lysis of fungi by melanins. *J. Bacteriol.* 94 : 624-629.

KUHNER R., 1973 – Architecture de la paroi sporique des Hyménomycètes et de ses différenciations. *Persoonia* 7 : 217-248.

LUTTRELL E.S., 1963 – Taxonomic criteria in *Helminthosporium*. *Mycologia* 55 : 643-674.

MANGENOT F. & REISINGER O., 1976 – Form and function of conidia as related to their development, in WEBER D.J. and HESS W.M., *Fungal Spore. Form and Function*. pp. 789-847, Wiley and Sons, N.Y.

MELENDEZ-HOWELL L.M., 1966 – Ultrastructure du pore germinatif sporal dans le genre *Coprinus* Link. *C.R. Acad. Sci.*, Paris, D, 263 : 717-720.

MELENDEZ-HOWELL L.M., 1967 – Les rapports entre le pore germinatif sporal et la germination chez les Basidiomycètes, en microscopie électronique. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, D, 264 : 1266-1269.

MELENDEZ-HOWELL L.M., 1970 – Sur le pore germinatif sporal de quelques Ascomycètes et ses rapports avec celui des basidiospores. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, D, 270 : 3204-3206.

MICHALENKO G.O., HOHL H.R. & RAST D., 1976 – Chemistry and architecture of the mycelial wall of *Agaricus bisporus*. *J. Gen. Microbiol.* 92 : 251-262.

MICHELL A.J. & SCURFIELD G., 1967 – Composition of extracted fungal cell walls as indicated by infrared spectroscopy. *Arch. Biochem. Biophys.* 120 : 628-637.

NICOT J., 1958 – Une moisissure du littoral atlantique, *Dendryphiella arenaria* n. sp. *Rev. Mycol.* 23 : 87-99.

OLAH G.M., 1972 – L'ontogénie sporale et l'ultrastructure de la paroi chez *Paecilomyces*

Source : MNHN, Paris

berlinensis. Can. J. Microbiol. 18 : 1471-1475.

OLAH G.M. & REISINGER O., 1973 — Étude ultrastructurale et comparative de la genèse des phialoconidies subendogènes et des annelloconidies. In *Proc. Int. Symp. Tax. Fungi*, Madras (Ed. B.S. Mehrothra) Cramer Lehre (sous presse).

OLAH G.M. & REISINGER O., 1974 a — Étude ultrastructurale et cytochimique de l'appareil sporifère chez *Phialophora richardsiae* (Nannf.) Conant. *Can. J. Bot.* 52 : 2473-2480.

OLAH G.M. & REISINGER O., 1974 b — L'ontogénie des téguments de la paroi sporale en relation avec le stérigmate et la gouttelette hilaire chez quelques Agarics mélanosporés. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, D, 278 : 609-611.

PICHE Y., SOKOLSKI S., KILBERTUS G. & REISINGER O., 1976 — Étude des premiers stades de la décomposition de *Coprinus comatus* (Müll. ex Fr.) Gray. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, D, 282 : 609-611.

REISINGER O., 1969 — Morphologie ultrastructurale et critères taxinomiques chez les Deutéromycètes. II. L'appareil sporifère chez *Dendryphiella vinosa* (Berk. et Curt.) Reisinger. *Rev. Mycol.* 34 : 109-121.

REISINGER O., 1970 a — Étude aux microscopes électroniques à balayage et à transmission de la paroi sporale et de son rôle dans la dispersion active des conidies chez *Helminthosporium spiciferum* (Bain.) Nicot. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, D, 170 : 3031-3032.

REISINGER O., 1970 b — Morphologie ultrastructurale et critères taxinomiques chez les Deutéromycètes. III. Étude au microscope électronique (à balayage et à transmission) de *Wardomyces pulvinata* (Marchal) Dickinson. *Acta Phytopathol.* 5 : 221-230.

REISINGER O., 1972 — Contribution à l'étude ultrastructurale de l'appareil sporifère chez quelques Hyphomycètes à paroi mélanisée. Genèse, modification et décomposition. Thèse Sci. Nat., Univ. Nancy I, 192 pp.

REISINGER O. & BONALY R., 1972 — Étude des modifications ultrastructurales des parois de *Dendryphiella vinosa* (Berk. et Curt.) Reisinger après traitements chimiques et enzymatiques. *C. R. Acad Sci.*, Paris, D, 274 : 50-53.

REISINGER O. & GUEDENET J.C., 1968 — Morphologie ultrastructurale et critères taxinomiques chez les Deutéromycètes. I. Les parois sporales chez *Dendryphiella vinosa* (Berk. et Curt.) Reisinger. *Bull. Soc. mycol. Fr.* 84 : 19-26.

REISINGER O. & KIFFER E., 1974 — Contribution to the fungal microflora of the Congo. IV. *Polyschema congolensis* sp. nov. Taxonomy and ultrastructure. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 62 : 289-294.

REISINGER O. & KILBERTUS G., 1972 — Biodégradation et humification. I. Biologie de la production de granules noirs par *Aureobasidium pullulans* (De Bary) Arnaud. *Bull. Ac. Soc. Sci. Lorr.* 11 : 265-275.

REISINGER O. & KILBERTUS G., 1973 — Biodégradation et humification. III. Libération des granules. Modèle expérimental, en présence des bactéries. Conclusions générales. *Soil Biol. Biochem.* 5 : 187-192.

REISINGER O. & KILBERTUS G., 1974 — Biodégradation et humification. IV. Microorganismes intervenant dans la décomposition des cellules d'*Aureobasidium pullulans* (De Bary) Arnaud. *Can. J. Microbiol.* 20 : 299-306.

REISINGER O. & OLAH G.M., 1974 — Étude ultrastructurale et cytochimique de la conidiogenèse chez *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Can. J. Microbiol.* 20 : 1387-1392.

REYNOLDS E.S., 1963 — The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 17 : 208-212.

RICHES P., ROTHWELL A. & RUSSELL D.W., 1967 — The spore surface depsipeptide of *Pithomyces sacchari* and *P. chartarum*. *J. gen. Microbiol.* 46 : 77-83..

SCHRANTZ J.P. & BOISSIERE J.C., 1974 — Étude comparée des parois des asques et des hyphes stromatiques de *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev. : composition chimique, cytochimie. *Rev. Cyt. Biol. vég.* 37 : 107-126.

Source : MNHN, Paris

SEIJI M. & IWASHITA S., 1965 — Enzyme inactivation by ultraviolet light and protective effect of melanin. *J. Biochem.* 57 : 457-459.

SOKOLSKI S., PICHE Y., REISINGER O. & KILBERTUS G., 1976 — Décomposition des spores de *Coprinus atramentarius* Bull. ex Fr. enfouies dans le sol. Étude ultrastructurale. *Rev. Mycol.* 40 : 37-44.

STOCKS D.L. & HESS W.M., 1970 — Ultrastructure of dormant and germinated basidiospores of a species of *Psilocybe*. *Mycologia* 62 : 176-191.

STRULLU D.G., 1974 — Étude ultrastructurale du réseau de Hartig d'une ectomycorrhize à Ascomycètes de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.). *C. R. Acad. Sci.*, Paris, D, 278 : 2139-2142.

SWIFT Y.A., 1968 — The electron histochemistry of cystine-containing proteins in thin transverse sections of human hair. *J. Roy. Micr. Soc.* 88 : 449-460.

THIERY J.P., 1967 — Mise en évidence des polysaccharides sur coupe fine en microscopie électronique. *J. Microscopie* 6 : 987-1018.

WESSELS J.G.M., KREGER D.R., MARCHANT R., REGENSBURG B.A. & DE VRIES O.M.H., 1972 — Chemical and morphological characterization of the hyphal wall surface of the Basidiomycete *Schizophyllum commune*. *Biochem. Biophys. Acta* 273 : 346-358.

WHEELER M.H. & TOLMSOFF W.J., 1976 — Ultrastructure of melanin formation in *Verticillium dahliae* with (+)-scytalone as a biosynthetic intermediate. *Can. J. Microbiol.* 22 : 702-711.

WONG J.N.F. & OLD K.M., 1974 — Electron microscopical studies of the colonization of *Cochliobolus sativus* by soil microorganisms. *Soil Biol. Biochem.* 6 : 89-96.

YOUNG T.K.W., 1969 — Electron and phase-contrast microscopy of spores in two species of the genus *Mycotypha* (Mucorales). *J. gen. Microbiol.* 55 : 243-249.

Source : MNHN, Paris

EXPLICATION DES PLANCHES

Planche I. — *1 : Dendryphiella vinosa.* Apex du conidiophore. Différenciation de la couche A. Couche B peu dense aux électrons. 2 : *Drechslera spicifera.* Insertion d'un conidiophore à base lisse sur une hyphe aérienne fortement ornementée. M.E.B. 3 : *Aspergillus niger.* Hyphe obtenue en milieu liquide. Zone mucilagineuse dispersée, réduite à une mince pellicule d'aspect granuleux (ZM) couvrant la couche B. 4 et 5 : *Dendryphiella vinosa.* Couche A plus ou moins éloignée de B et matériaux remplissant ces espaces (échinulations). Mélanisation progressive de B; B_2 : zone mélanisée, B_1 : zone apigmentée. Organe extramatriciel. 6 : *Aspergillus niger.* Hyphe obtenue en milieu liquide dépourvue de zone mucilagineuse. Structure de la couche B jeune.

Planche II. — 7 : *Cenoccocum graniforme.* Parois isolées à partir du mycélium obtenu en milieu liquide. Zone mucilagineuse (ZM) persistante et début de mélanisation de la couche B. 8 : Hétérosporiose de l'Iris. Zone mucilagineuse (ZM) plus ou moins spongieuse couvrant les hyphes parasites dans les tissus de la plante. 9 : *Drechslera sorokiniana.* Hyphe intrahyphale. Superposition de 2 parois complètes (A + B). La couche A de l'hyphe interne formée dans un milieu humide évoque une zone de mucilage rudimentaire (flèches). 10 : *Dendryphiella vinosa.* Matériel obtenu en milieu liquide. Parois purifiées et soumises à l'action du complexe enzymatique de l'Hélicase. Noter la persistance des fibrilles de la zone mucilagineuse (ZM). 11 : *Acremoniella velata.* Zone mucilagineuse (ZM) et couche B se développant dans des racines de Tomate en décomposition. 12 : *Doratomyces purpureofuscus.* Coupe longitudinale de corémie. La couche A fortement mélanisée semble jouer le rôle du ciment.

Planche III. — 13 : *Pyrenochaeta lycopersici.* Zone mucilagineuse (ZM) et mélanisation de la paroi d'une hyphe obtenue en milieu liquide agité. 14 : *Pyrenochaeta lycopersici.* Zone mucilagineuse d'aspect spongieux (ZM) dans les méats interhyphaux. Matériel obtenu en milieu liquide et soumis pendant 15 jours à l'action d'une population microbienne tellurique. Début de lyse bactérienne du mucilage (rare). Ba : bactérie. 15 : *Drechslera spicifera.* Conidie diplothéquée. Paroi formée des couches A, B, C_1 et C_2. 16 : *Pyrenochaeta lycopersici.* Hyphe dépourvue de mucilage et obtenue en milieu liquide. Coupe tangentielle de la couche B. Les sites à réaction positive (technique de Thiéry) et à arrangement linéaire (flèches) sont des polysaccharides constitutifs ou migrant pour former la zone mucilagineuse. La densité plus élevée de la zone externe est due à un début de mélanisation (zone B_2). G : glycogène. 17 : *Dendryphiella vinosa.* Libération spontanée des granules de mélanine en milieu aqueux. 18 : *Pyrenochaeta lycopersici.* Destruction partielle de la charpente fondamentale de la couche B. Libération des granules de mélanine. Hyphe obtenue en milieu liquide et soumise à l'action d'une population microbienne tellurique pendant 1 mois.

Planche IV. — 19 : *Acrostaphyllus* sp. Couche A de la conidie encore en relation partielle avec celle du conidiophore. Les matériaux de la cicatrice conidienne (CC) se réorganisent pendant la maturation, mais ce phénomène n'altère pas la couche A. 20 : *Gilmaniella humicola.* Strates de la couche B conidienne jeune, mises en évidence par la fixation au permanganate. 21 : *Beauveria bassiana.* Propagule obtenue en milieu liquide et dépourvue de zone mucilagineuse. Des sites à réaction positive (technique de Thiery) s'échappent de la surface de la couche B et sont captés par des feuillets d'argile (Ag). 22 : *Gilmaniella humicola.* Couches constitutives de la paroi sporale mûre; A, B et C. Hile (H) formé par les débris annulaires de la couche A. 23 : *Gilmaniella humicola.* Strates (numérotées de 1

Source : MNHN, Paris

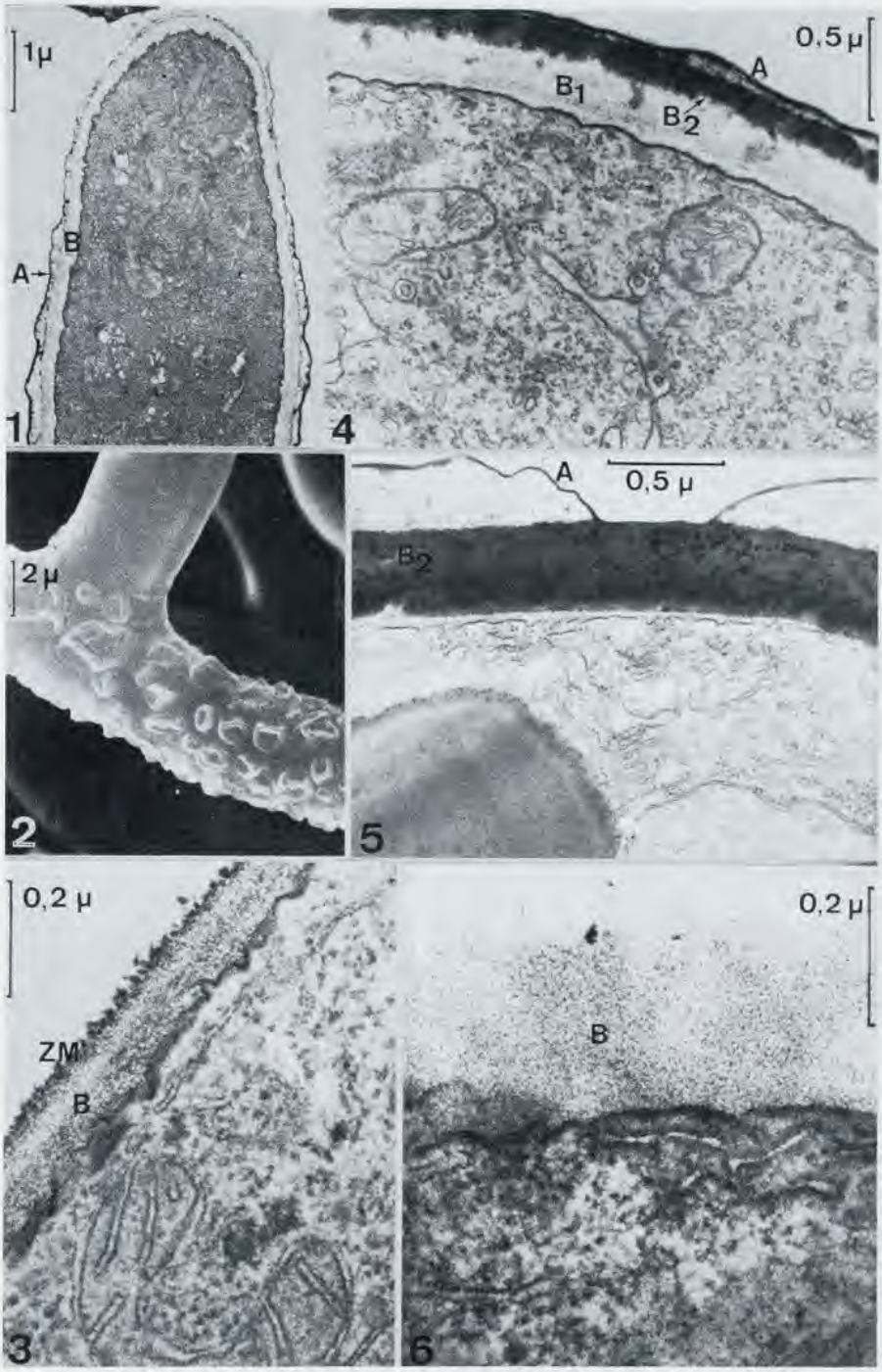
à 8) révélées dans certaines conidies âgées par la fixation au permanganate. 24 : *Stephanosporium cerealis*. Individualisation des conidies par la lyse partielle de la couche B. Bande équatoriale mélanisée (flèches), couche A et couche C intactes.

Planche V. — 25 : *Drechslera sorokiniana*. (mutant albinos). Conidie diplothéquée. Éléments constitutifs de la paroi; couches A, B, C_1, C_2. Couche C_1 gonflée par hydratation. 27 : *D. sorokiniana*. (mutant albinos). Début de lyse de la couche B conidienne (dispersion des fibrilles) et îlots de la couche C_1. 26 et 28 : *D. sorokiniana*. (mutant albinos). Lyse de la couche C_1. Mise en évidence de la profondeur de pénétration dans la cloison de part et d'autre de la zone de clivage (zc) et couche C_2.

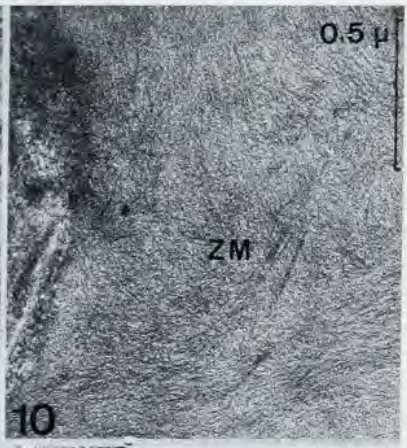
Planche VI. — 29 : *Pyrenochaeta lycopersici*. Matériel hyphal obtenu en milieu liquide agité, et soumis pendant 1 mois à l'action d'une population microbienne tellurique. Noter la présence des bactéries intrahyphales (Ba), et la disparition de la zone apigmentée (B_1). Les deux types de zone mucilagineuse (ZM), filamenteux et spongieux cimentant les hyphes sont peu altérés. 30 : *Verticillium* sp. Mycélium obtenu en anaérobiose en milieu liquide stationnaire. Zone mucilagineuse (ZM) réduite. Technique de Thiery. 31 : *Coprinus atramentarius*. Spores soumises à l'action d'une microflore tellurique pendant 4 jours. Développement des bactéries (Ba) et disparition de l'équivalent de la couche C et du bouchon du pore germinatif. 32 : *Dendryphiella vinosa*. Débris de paroi conidienne à couches non mélanisées disparues après passage dans le tractus digestif d'un acarien. Noter la lyse profonde de la zone B_2 aux endroits faiblement pigmentés (flèches). 33 : *Verticillium* sp. Même que figure 30, mais obtenu en aérobiose. Pas de changement dans la structure générale de la paroi.

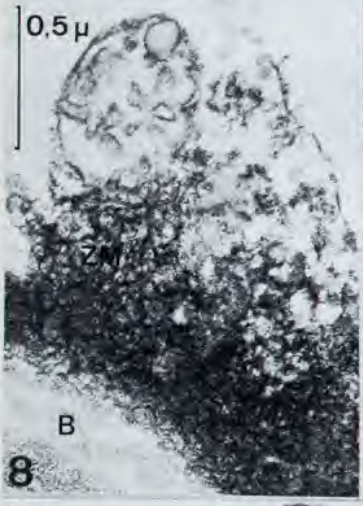
Planche VII. — 34 : *Coprinus atramentarius*. Équivalents des couches A, B et C des conidies. Pore germinatif (P), stérigmates (ST). 35 : *Trichocladium asperum*. Mycélium intramatriciel, mise en évidence des substances polysaccharidiques. Les filaments de la zone mucilagineuse (ZM) sont matérialisés par une série de sites positifs (flèches). 36 et 39 : *T. asperum*. Conidies à des stades de maturité différents. Mise en évidence des substances polysaccharidiques. Couche A et développement des ornementations. La couche B semble plus réactive dans la conidie plus jeune (fig. 39). 37 : *Coprinus comatus*. Basidiospore mûre possédant une mince pellicule de mucilage (ZM). Équivalents des couches B et C. 38 : *C. comatus*. Basidiospore mûre. La technique de Thiery révèle la nature polysaccharidique de la pellicule mucilagineuse (ZM). La couche C semble peu réactive.

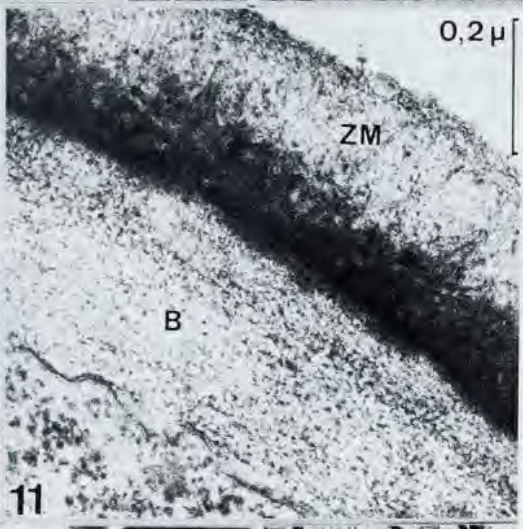
Source : MNHN, Paris

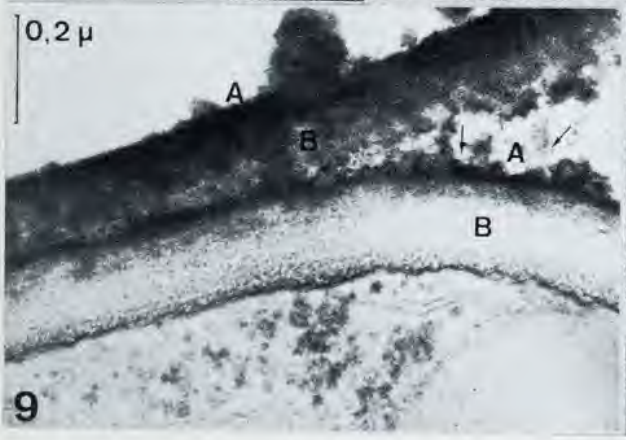


Source : MNHN, Paris

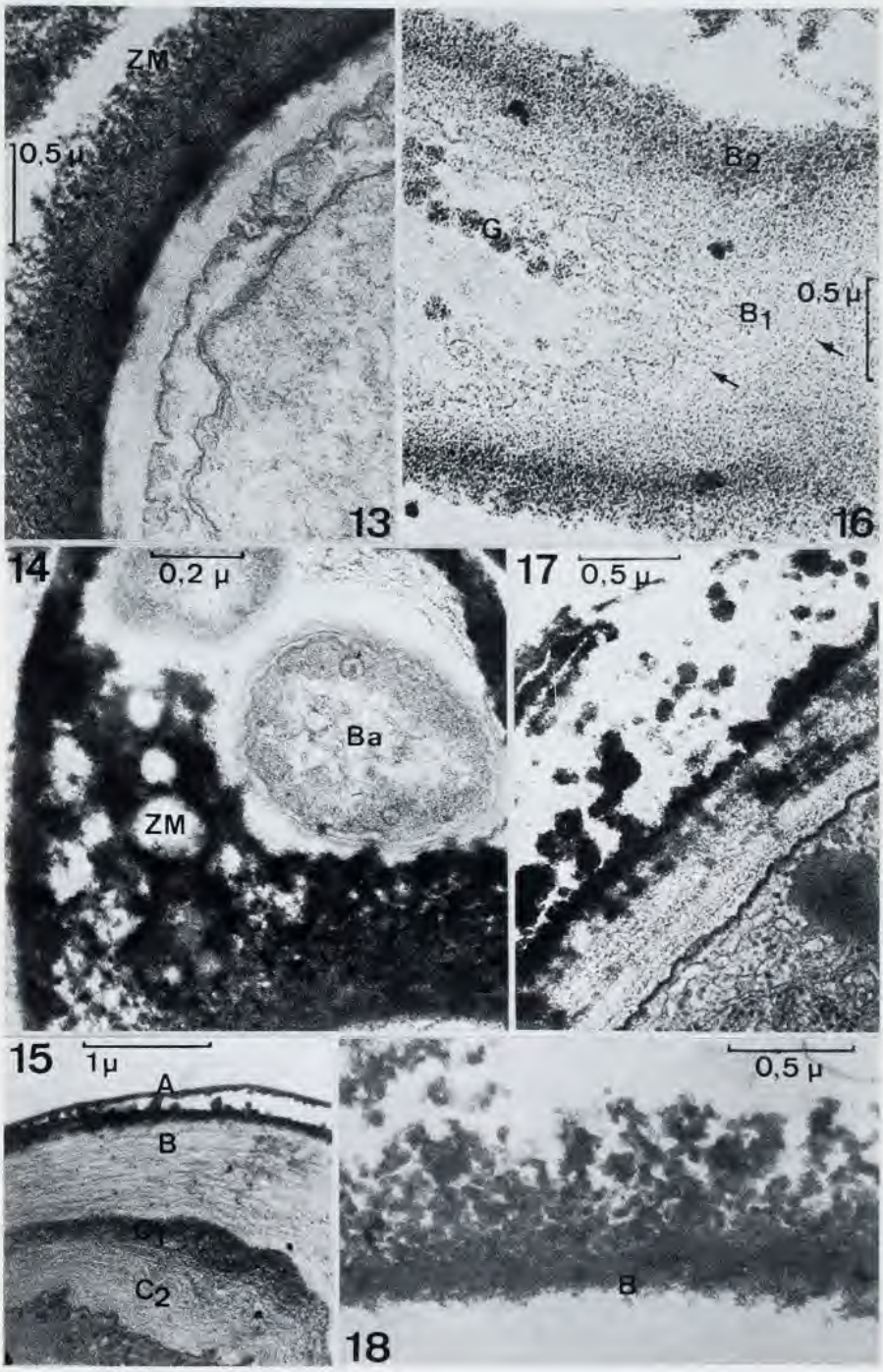




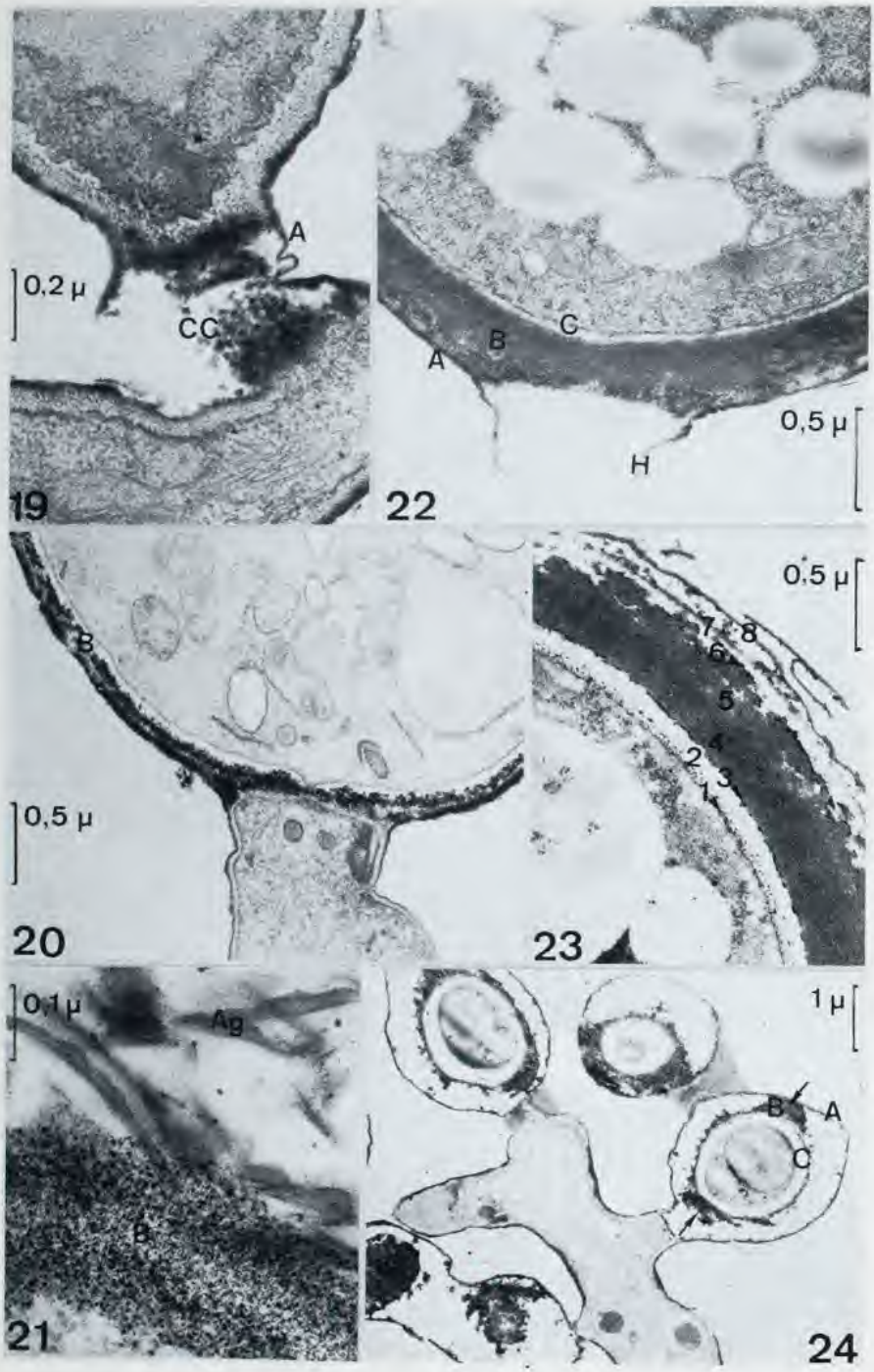




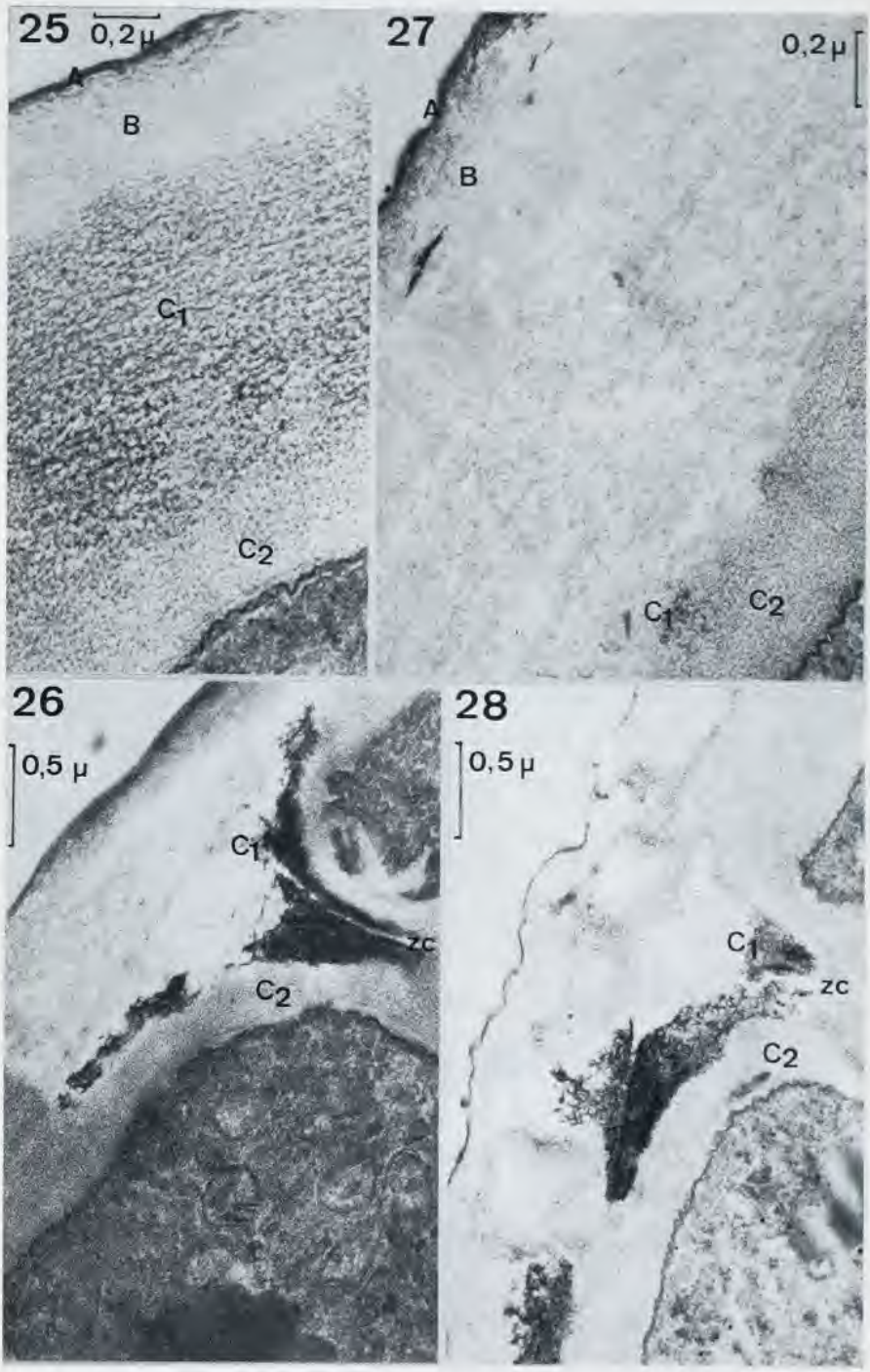
Source : MNHN, Paris



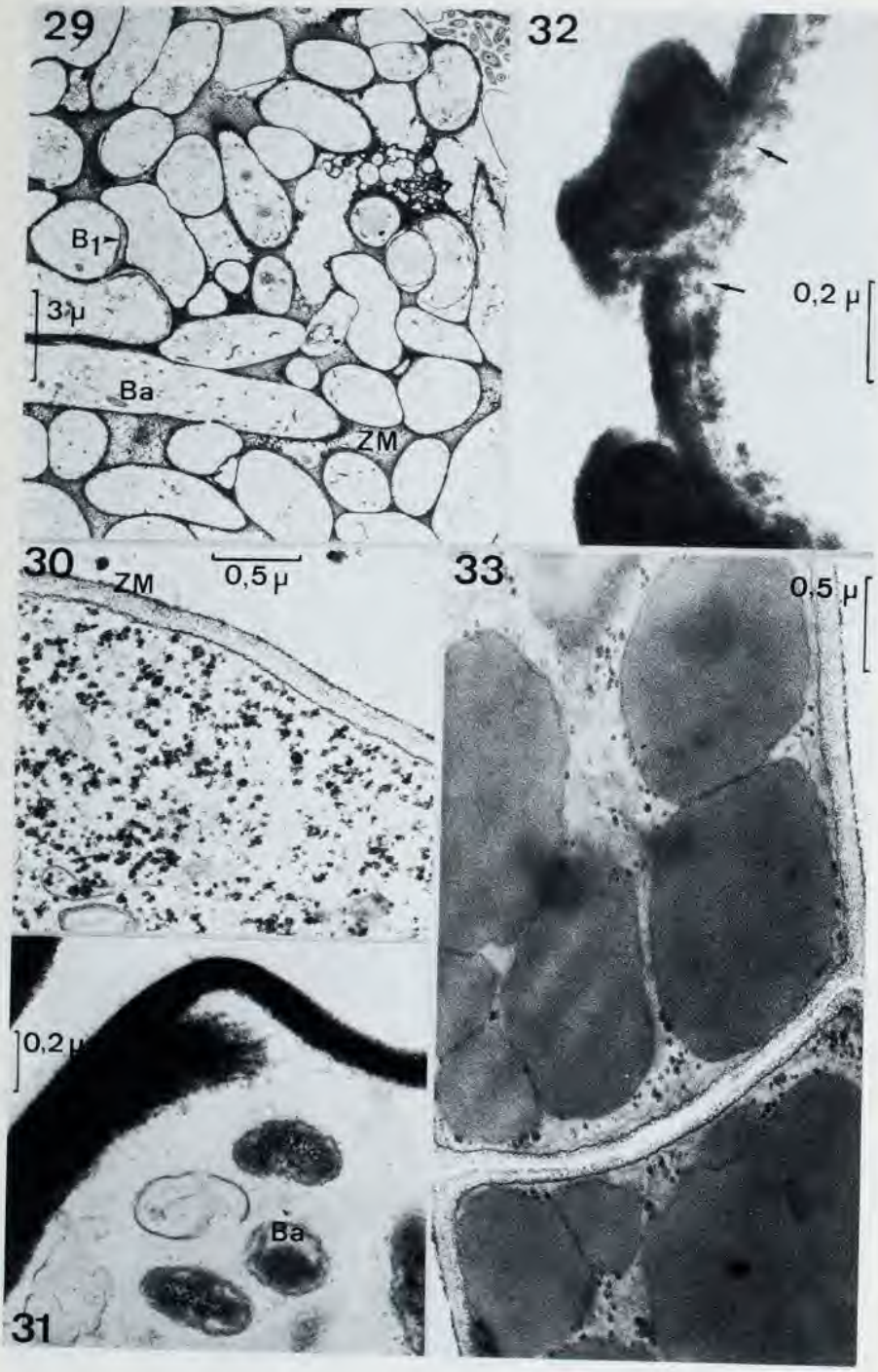
Source : MNHN, Paris



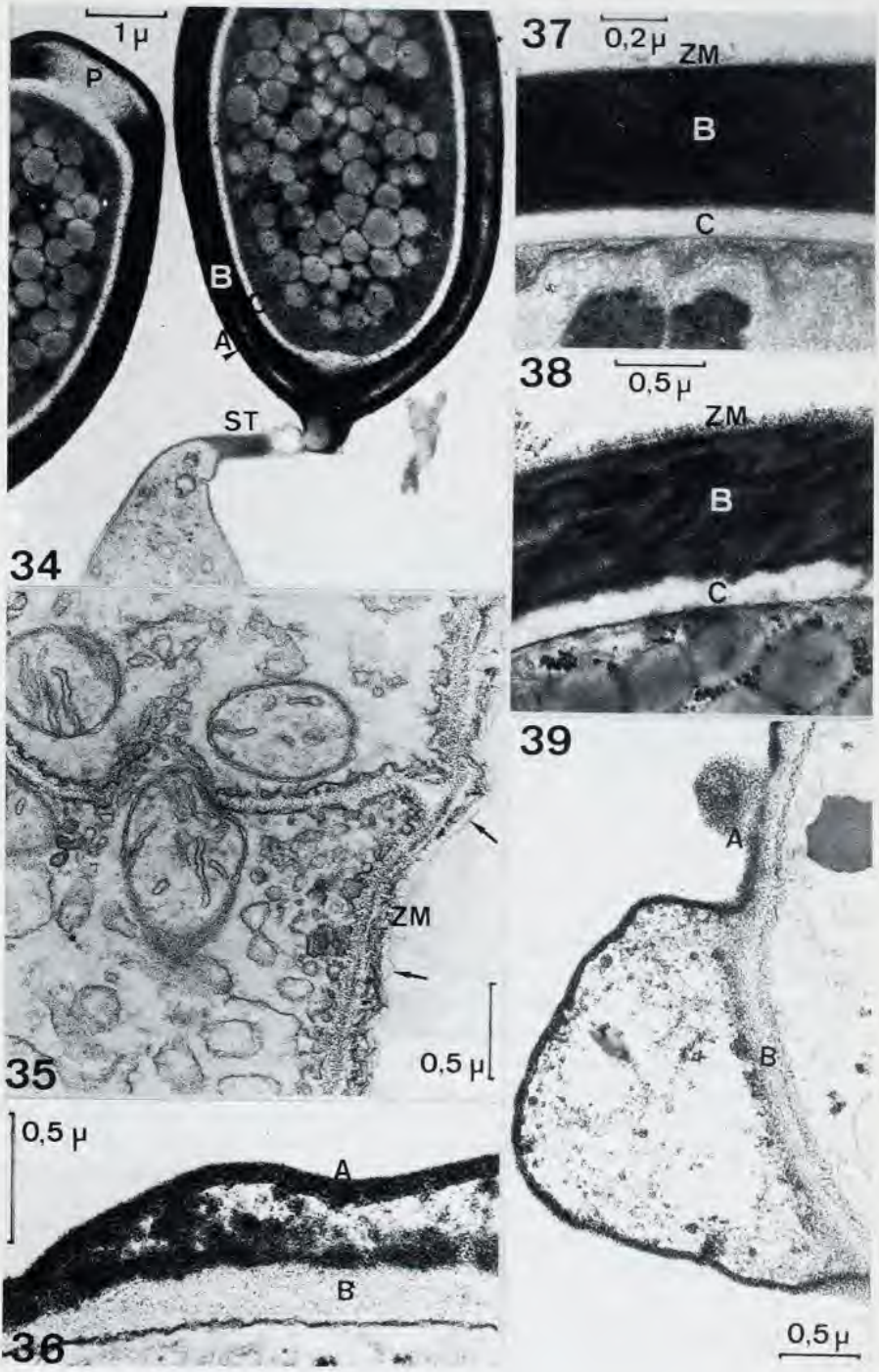
Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

PENIOPHORA (subg. DUPORTELLA) MALENÇONII nov. sp. (Basidiomycètes CORTICIACEAE), espèce méditerranéenne partiellement interstérile avec son vicariant californien

par J. BOIDIN et P. LANQUETIN *

RÉSUMÉ. — Le type et les paratypes du *Stereum heterosporum* Burt n'appartiennent pas à la même espèce. Le type est *Peniophora albobadia* (Fr.) Boid., et l'adjectif *heterosporum* tombe en synonymie; nous proposons *P. malençonii* pour désigner le champignon méditerranéen. Le *Stereum heterosporum* californien est imparfaitement interfertile avec l'espèce méditerranéenne et apparaît comme son vicariant américain.

SUMMARY. — The Type and Paratypes of *Stereum heterosporum* do not belong to the same species. The type being in fact *Peniophora albo-badia* (Fr.) Boid., the adjective *heterospora* is synonymous and we propose *P. malençonii* to designate the mediterranean fungus. The California *St. heterosporum* is imperfectly interfertile with the mediterranean species and seems to be an american vicarious.

Dans l'envoi que G. MALENÇON nous adressait du Maroc fin 1958, deux récoltes non identifiées retenaient notre attention. Ayant eu entre les mains cette même année, pour notre étude des *Peniophora* à dendrophyses, divers exsiccata de l'herbier E. A. BURT, nous suggérions à G. MALENÇON que ses N° 2332 et 2368 pouvaient correspondre au *Stereum heterosporum* Burt, du moins aux deux spécimens californiens qui nous avaient été prêtés. Plus tard D. A. REID nous interrogeait à propos d'une récolte qu'il avait faite en mai 1965 en Corse, puis H. JAHN nous questionnait sur une récolte de H. NEUBERT, faite aux îles Lipari en avril 1969, et enfin, tout récemment, F. KOTLABA nous transmettait un spécimen récolté par lui en mai 1973 en Turquie; à tous trois nous répondions qu'il devait s'agir du *Stereum heterosporum* américain. D. A. REID (1969) publiait une description détaillée du champignon

* Laboratoire de Mycologie associé au CNRS. Université Cl. Bernard, 43, boulevard du 11 Novembre 1918, F 69621 Villeurbanne, France.

Source : MNHN, Paris

corse sous le nom de *Lopharia heterospora* (Burt) Reid, tandis que dans un court papier, «A propos du genre *Lopharia*» (1969) nous expliquions les raisons pour lesquelles nous reconnaissions, malgré l'aspect extérieur, une parenté plus étroite avec le genre *Peniophora* sensu str. Enfin, en 1974 nous proposions la combinaison *Peniophora* (subg. *Duportella) heterospora* (Burt) après avoir discuté des affinités de ce champignon avec les *Peniophora* subg. *Peniophora* et subg. *Duportella*. C'est avec surprise que nous apprenions d'A.L. WELDEN (in litt.) que le type désigné par BURT et originaire du Mexique (E. O. Matthews 27, in BPI et FH n° 44 106) et d'autres spécimens déterminés par BURT de ce même pays étaient des *Peniophora albobadia* (Schw. ex Fr.) Boid., données qu'il confirme dans sa récente publication (1975). Le type étant seul à considérer, nous ne pouvons donc plus utiliser le binôme *Peniophora heterospora* (Burt) Boid. et Lanq. pour le champignon méditerranéen, ni pour certaines récoltes américaines, californiennes par exemple. Un nouveau nom est nécessaire.

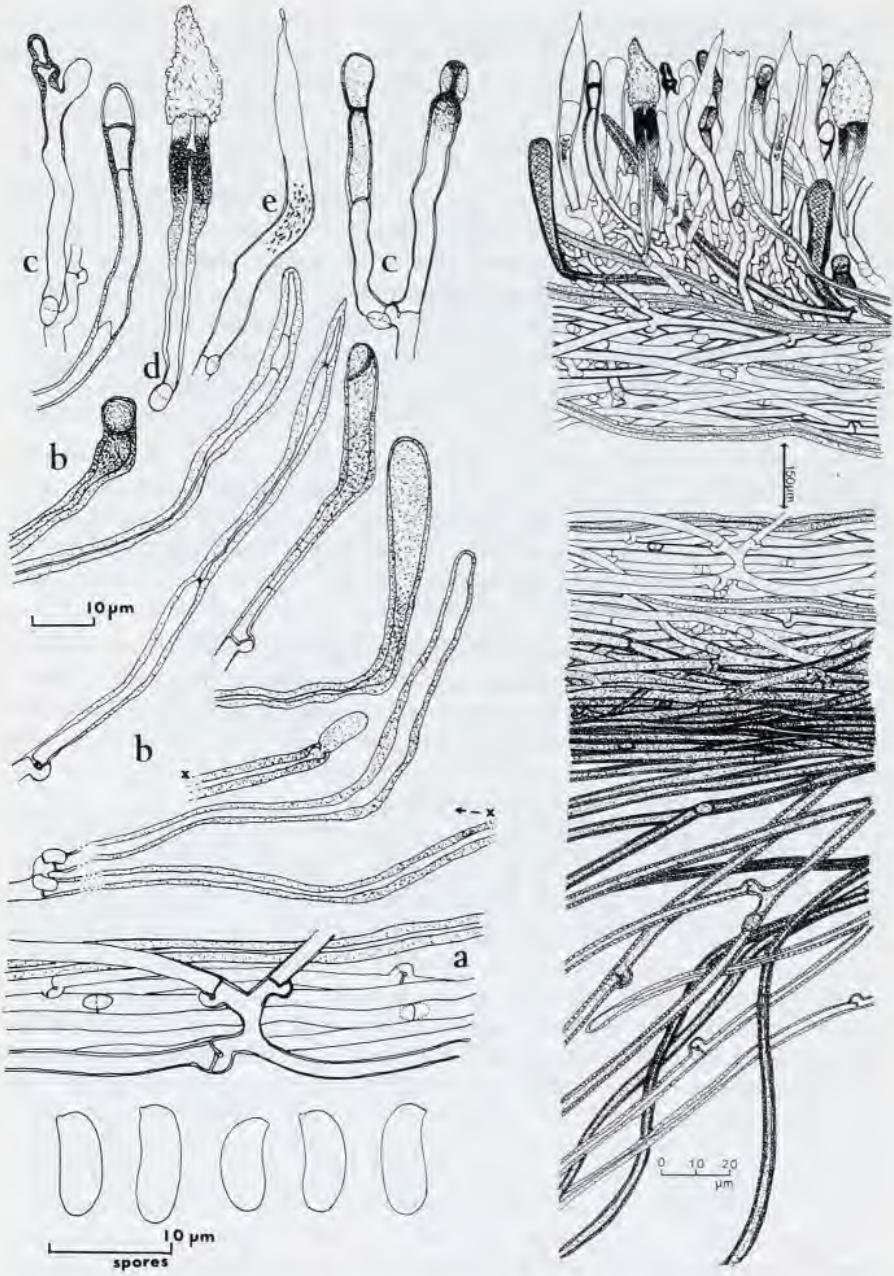
Nous décrirons ici le spécimen des îles Lipari et le choisirons comme type. Toutes les mesures microscopiques, sauf indications contraires, sont prises dans la phloxine-KOH à 3%.

Peniophora malençonii nov. sp. (1)

Nascitur sub specie parvarum macularum non haerentium, deinde expansarum in latas laminas velutinas, fuscas vel e cacainas fuscas, paucis mm. reflexas, facie sterili tomentosa atque paulum circulis parallelis sulcata, praeter marginem fusca; contexto fibroso fusco. Carpophorus 200-350 µm crassus, tomento ex hyphis parietibus fuscidulis vel intense fuscis, tunica crassa, fibulatis. Cortice magis minusve manifesto, dense, intentissime fusco; contexto pallidiore, ex hyphis genetricibus fibulatis, tunica interdum incrassata, substrato parallelis atque aliquot hyphis skeleticis tunica crassissima paulumque tincta constante. Basidiis clavatis tetrasporis. Gloeocystidiis subulatis, paulum sulfo-aldehydum ope coloratis, in schizopapillam desinentibus. Cystidiis lanceolatis, tunica crassissima, in apice hyalina cristalliferaque, in inferiore parte intense fuscis. Permultis cellulis sterilibus summis fuscis, tunica magis minusve distincta. Inter cystidia vera atque has cellulas omnino erectas, mixtae sunt partes extremae resurgentes hypharum squeleticarum pseudocystidia efficentium, altera lanceolata incrustataque, altera obtusa nudaque. Sporis cylindratis, 8-10-(13) × 3-3,75(4,2) µm, in massa roseis, uninucleatis. Species tetrapolaris, mycelio habitu nucleari normali. Lignicola, in regione circummediterranea. Holotypus in LY N° 5428.

(1) Malgré la difficile latinisation de son nom, nous dédions cette espèce à Monsieur Georges Malençon, grand spécialiste de la mycologie de la méditerranée occidentale qui a, le premier, découvert cette espèce dans le bassin méditerranéen. Comme le fait remarquer H. Romagnesi, que nous remercions vivement d'avoir bien voulu traduire la diagnose en latin, s'il n'y avait pas de «ç» en vrai latin, il n'y avait pas non plus de «j» ni de «v».

Source : MNHN, Paris



Pl. I. — *Peniophora malençonii*, LY 6428, holotype, éléments stériles différenciés dans leurs positions respectives. a : contexte supérieur avec une hyphe squelettique. b : différentes pseudocystides. c : éléments au sommet précocement bruni. d : une cystide incrustée. e : une gloeocystide à schizopapille terminale.

Source : MNHN, Paris

syn. : *Stereum heterosporum* Burt *pro parte* (le type, qui est *Peniophora albobadia* (Schw. ex Fr.) Boid. est exclu.)
Lopharia heterospora (Burt) Reid, Rev. Mycol. (Paris) 33 : 251, 1969.
*Peniophora (*subg. *Duportella) heterospora* (Burt) Boid. et Lanq., Bull. Soc. Linn. Lyon 43 (numéro spécial) : 58, 1974, *sensu auct.* europ.

En petites taches à marge blanchâtre non adhérente, puis confluent en larges surfaces laissant longtemps apparaître les lignes de soudure; il peut se réfléchir sur plusieurs millimètres; la partie réfléchie est souple, assez mince. Marge étroite, un peu festonnée, brusque, blanche à crème. Hyménium velouté, bistre pâle en cours de sporulation (7,5 YR 5/2)*, constellé, sous une forte loupe, de ponctuations pâles donnant un aspect pruineux. La surface est rarement lisse, et peut montrer de légers vallonnements. Face stérile tomenteuse, un peu sillonnée concentriquement, brune sauf à la marge pâle. Contexte fibreux brunâtre.

En herbier, il peut se fendiller notamment dans les parties âgées qui sont bistre sombre (7,5 YR 3/2); il passe à brun sombre (5 YR 2/2) puis, près de la marge, il pâlit vers brun tabac (5 YR 4/2,5) puis vers beige (8,5 YR 6,4), enfin blanchâtre. Ses couleurs sont donc peu différentes de celles du spécimen vivant. Son aspect général est celui de *Lopharia spadicea*, mais sa teinte moyenne dépourvue d'olivacé a des tons plus rougeâtres.

Les autres spécimens cités ci-dessous ont toujours cette marge pâle caractéristique contrastant avec un hyménium brun bistre dont les teintes, en herbier, varient avec l'importance de la pruine, vers le gris souris (10 YR 5/2 - 7,5 YR 5/2 à 5/3 - 10 YR 5/3). En sporulation, l'un d'entre eux atteignait le brun chocolat (5 YR 4/1,5).

Le basidiome est épais de 200-250 µm près de la marge et dépasse 320 µm à un demi-millimètre du bord (tomentum de la face stérile exclus). Il ne s'épaissit guère par la suite. Dans les parties réfléchies, le tomentum, épais, est formé d'hyphes, 3,2-4 µm diam., à paroi généralement très épaisse (1-1,5 µm) jaunâtres à brunes, parfois ramifiées, bouclées, mais pouvant aussi montrer quelques cloisons de retrait bombées. Dans les parties appliquées au support ces mêmes hyphes existent, très brunes. Un cortex vient ensuite, qui n'est que le tissu du contexte plus serré et surtout plus bruni; il forme une croûte de 50-70 µm d'épaisseur dans les parties réfléchies et s'estompe ailleurs. Contexte pâle sur coupes minces observées dans KOH-phloxine, vaguement brunâtre surtout à ses deux extrêmes, épais de 180-200 µm. Il est essentiellement constitué d'hyphes génératrices, 2-3-(4) µm diam., bouclées, ramifiées, à paroi subhyaline, submince à la marge, plus ou moins épaissie (jusqu'à 0,8 µm) ailleurs. Leur disposition dominante est parallèle au substratum; elles sont serrées mais non soudées ni gélifiées. Il s'y mêle, notamment dans la partie voisine du sous-hyménium, et en moindre abondance vers la face stérile, des hyphes, de 3-3,5-4 µm de large, à paroi épaisse à très épaisse et lumen souvent étroit à subnul, hyalines à la marge puis brunâtre pâle, parfois plus sombres, qui sont de longs

* références aux codes de la Munsell Book Color Company (Baltimore, U.S.A.).

Source : MNHN, Paris

articles terminaux nés sur une boucle. On peut parler d'hyphes squelettiques. Sous-hyménium et hyménium atteignant 80 à 100 µm d'épaisseur; ils montrent des hyphes génératrices hyalines, bouclées, à paroi souvent un peu épaissie, très ramifiée qui donnent naissance :

1. – à des basides, 40-50 × 6 µm à 4 stérigmates, à paroi hyaline un peu épaissie dans les deux tiers inférieurs,

2. – à des gloeocystides subulées, 52-60 × 5,5-6,5 µm, terminées par une étroite schizopapille allongée, 1,5-2 × 1 µm, au contenu peu et localement réfringent, légèrement sulfo-aldéhyde positif, assez souvent émergentes,

3. – à des cystides lancéolées, incrustées de granules ou d'une gaine cristalline hyaline recouvrant une paroi très épaisse et hyaline tandis que la partie sous-jacente, elle aussi à paroi très épaisse, est fortement brunie; elles mesurent 55-100 × 9-13 µm avec les cristaux (6,5-10 µm sans les cristaux) qui se dissolvent dans KOH,

4. – et, à de nombreux éléments stériles, au sommet précocement bruni, qui donnent à l'hyménium sa teinte sombre : ils sont généralement nés comme des articles générateurs hyméniens hyalins dont l'extrémité s'est cloisonnée (cloison de retrait) et dont la paroi épaissie est devenue brune, soit au-dessous, soit au-dessus de la fausse cloison; ils mesurent 42-60 × 4-7 µm; la paroi du sommet est généralement flasque donnant à celui-ci un aspect biconcave.

Du sommet du contexte, des hyphes squelettiques se redressent plus ou moins tardivement pour former des pseudocystides brunâtre-pâle, un peu élargies, obtuses, 5-8 µm de large, généralement nues, se terminant obliquement sous les basides. Dans les parties où l'hyménium est épais, s'y adjoignent parfois en grand nombre, des hyphes squelettiques brunâtres, 3 µm diam., nées horizontalement, qui se redressent en même temps qu'elles s'élargissent en étroites massues très obtuses, larges de 5-8 µm, pour se terminer jusqu'à 50 ou 60 µm de la surface. Leur paroi peut rester épaisse dans la partie sommitale ou s'amincir parfois jusqu'à devenir flasque comme celles des éléments hyméniens à sommet brun avec lesquels elles font transition.

On remarque enfin quelques pseudo-cystides incrustées, qui, longueur et racine horizontale mises à part, sont à leur sommet semblables aux cystides lancéolées nées verticalement (voir 3 ci-dessus). On a donc tous les passages entre éléments différenciés dès le contexte ou formés plus ou moins tardivement dans la zone hyméniale verticale.

Les spores sont rose saumonné en masse, cylindriques droites ou légèrement incurvées, 8-10 (13) × 3-3,75-(4,2) µm, à paroi lisse non amyloïde, uninucléées.

Récoltes examinées : EUROPE : LY 6428, sur *Spartium junceum*, vallée du Rio Grande, île Vulcano (îles Lipari, Italie), le 4 avril 1969, leg. H. Neubert, Holotype in LY; LY 5151, sur *Quercus ilex*, Propriano (Corse, France), le 25 mai 1965, leg. D. A. Reid, in K et LY.

AFRIQUE : LY 3131, on *Celtis australis*, oued Remila près Bab Ahzar (Maroc), le 6 juin 1952, leg. G. Malençon N° 2332; LY 3162, sur *Olea europaea*

Source : MNHN, Paris

var. *oleaster* (ou *Pistacia lentiscus* ?), vallée du Korifla (Maroc), le 18 mars 1953, leg. G. Malençon N° 2368.

ASIE : LY 7580, sur *Laurus nobilis*, Konacik près Uluçinar, environs de Iskenderun (Turquie méridionale), le 3 mai 1973, leg. F. Kotlaba.

Comme nous l'avons écrit plus haut, la description donnée ci-dessus est celle du type reçu frais et sporulant à Lyon, et récolté en pleine végétation. Notre description est en accord avec celle de D.A. REID basée sur sa récolte corse. Cet auteur a toutefois désigné et figuré comme «young lanceolate cystidium protruding slightly beyond the hymenial surface and devoid of encrustation» ce que nous avons dénommé gloeocystides. Il est possible, BOURDOT l'a exprimé justement pour d'autres *Peniophora*, que de telles gloeocystides puissent évoluer en cystides incrustées, mais cela reste à prouver. Les autres spécimens montrent les mêmes éléments microscopiques, mais les coupes sont plus sombres, les hyphes squelettiques étant souvent brun ou plus ou moins foncé ainsi que les pseudocystides les plus profondes; de même les éléments stériles à sommet flasque sont très colorés dans leur partie supérieure. La récolte LY 3131 est stratifiée avec deux bandes très sombres, la première correspondant aux pseudocystides obliques puis redressées, la seconde située à mi-hauteur dans la zone hyméniale haute de 100 μm (le basidiome a 400 μm d'épaisseur, tomentum exclus) étant essentiellement due aux éléments stériles à sommet flasque ici nombreux et brun très sombre.

C'est à dessein que nous n'avons pas fait mention des spécimens américains dont il faut parler maintenant. Nous venons de recevoir de l'Université de Harvard le type (Chihuahua, Mexico, E.D. MATHEWS 27, ex Missouri Bot. Gard. 44106 in FH) et l'ensemble des paratypes de Californie et Orégon cités in BURT (1920, p. 221). Comme l'indique WELDEN (1975), le spécimen mexicain désigné comme type par BURT est bien *Peniophora albo-badia* et ceci explique que la diagnose de *St. heterosporum* Burt dise «paraphyses. . . branched numerous at the surface of the hymenium» en totale contradiction cependant avec sa figure 43 qui ne montre aucune dendrophyse. Mais l'ensemble des paratypes californiens, y compris le spécimen 1116 de ELLIS & EVERHART distribué sous le nom de *St. albobadium*, ne montre aucune dendrophyse et représente ce que nous avions cru être le vrai *St. heterosporum* Burt. Nous n'avons pas eu en communication de spécimens de l'Arizona; le spécimen d'Orégon n'a ni les éléments caractéristiques de *P. albobadia*, ni ceux de *P. heterospora*, il est dépourvu de boucles.

Nous devons à A.L. WELDEN une récolte et une sporée sur papier d'un *Peniophora «californica»* nom. prov. (leg. : K. WELLS, sur *Acer negundo*, 28 novembre 1962, Davis, Californie). Ce spécimen a la structure et les éléments microscopiques de *P. malençonii*; on peut cependant remarquer :

– que la spore est un peu plus étroite (7,2)-8-10,5 × 2,75-3,2 μm, et plus arquée.

– que dominent dans l'hyménium les pseudocystides souvent piquetées de petits cristaux détersiles et très brunies dans leur partie redressée alors que

Source : MNHN, Paris

les éléments nés au niveau des basidioles et à sommet seul brun et souvent affaissé sont rares. En cela il correspond bien aux paratypes californiens du *St. heterosporum* de BURT. Vu la disjonction de l'aire et ces quelques différence mineures, il était souhaitable d'utiliser le test d'interfertilité :

A New Orleans, A.L. WELDEN a déterminé la tétrapolarité de son *P. «californica»*; malheureusement nous n'avons pu disposer que de 3 monocaryons de pôles différents, les n°s 12, 13 et 15, ces deux derniers étant complémentaires. A Lyon, la collection contenait trois des quatre pôles déterminés sur la récolte Corse (LY 5151) en 1968 et trois monocaryons A, B et C de pôles indéterminés, de la récolte LY 6428 (choisie aujourd'hui comme type). Vu les résultats exposés ci-dessous, il est regrettable que nous n'ayons pu disposer d'un plus grand nombre de monocaryons (par ex. : au moins deux de chaque pôle pour chaque partenaire) mais A.L. WELDEN comme nous-même sommes très éloignés des lieux de récoltes éventuelles.

On rencontre là une des difficultés majeures de ce type d'étude car il n'est pas possible de prévoir ni de programmer les récoltes de champignons rares ou peu connus comme on pourrait le faire pour des plantes à fleurs, ni de maintenir en culture un nombre illimité de monocaryons à usage ultérieur problématique.

Des résultats imparfaits, très partiellement positifs ont été obtenus de manière répétée. Ils sont regroupés dans le tableau ci-après :

P. malençonii	LY 5151						LY 6428		
	1971			1976			1972		
P. californica	A_1B_1	A_2B_2	A_2B_1	A_1B_1	A_2B_2	A_2B_1	A	B	C
12	–	±	–	–	±	–	–		±
13 }	–	±	–	–	+*	±	–	–	±
15 }	–	+*	±	–	+*	±	–	–	

Légende : en aucun cas, des boucles constantes et pérennes n'ont été obtenues. ± : boucles rares, souvent non anastomosées en retour. +* : vraies boucles mêlées à des boucles non fermées et à des cloisons sans boucles (voir détails dans le texte).

Nous détaillerons les résultats de 1976 entre *P. malençonii* 5151 et *P. californica*. Les cultures des partenaires, appariés sur Nobles, en boites de Pétri, ont le même aspect avec très peu de mycélium aérien. Toutes ont été faites en double.

- *P. malençonii* A_1B_1 X *P. «californica»* 12 - 13 et 15 : résultats entièrement négatifs.

- *P. malençonii* A_2B_2 X *P. «californica»* 12 : une interaction se manifeste - sans formation de barrage ni de bourrelet - par un brunissement progressif de la ligne de contact qui montre en outre, au milieu d'hyphes dépourvues de boucles, de très rares hyphes avec quelques boucles. Après repiquage sur lame gélosée, si la subculture montre de larges zones sans boucles, on peut

Source : MNHN, Paris

cependant observer quelques hyphes portant des boucles à 9 et, même une fois à 17 cloisons successives, toutefois ces boucles sont le plus souvent cloisonnées non anastomosées (fausses boucles). Lorsque la subculture couvre toute la lame, les boucles ou «tentatives» de boucles sont très nombreuses vers la bouture, puis quand on s'éloigne de celle-ci, elles apparaissent localisées par plages, enfin vers la marge, elles sont absentes. Dans la boite de Pétri, à 3cm de la ligne de contact, LY 5151 forme un petit îlot de mycélium aérien qui possède de nombreuses boucles parfois normales, souvent non anastomosées. Trois jours après son repiquage sur lame gélosée, les hyphes de la marge présentent de nombreuses boucles en majorité normales, mais, intercalées entre elles, on observe toujours des boucles non fermées.

- *P. malençonii* A_2B_2 X *P. «californica»* 13 : une interaction très limitée provoque le brunissement tardif de la ligne de contact sur 5 cm de long; sur cette ligne, les hyphes montrent d'assez nombreuses boucles anastomosées; sur le territoire du *P. californica* les hyphes sont dépourvues de boucles, par contre on en observe lors des divers prélèvements sur la culture de *P. malençonii* notamment à la périphérie contre le verre. Les subcultures, âgées de 5 semaines, montrent des boucles nombreuses même à leur marge : les hyphes possèdent une majorité de cloisons bouclées avec, intercalées, quelques cloisons simples et quelques boucles imparfaites.

- *P. malençonii* A_2B_2 X *P. «californica»* 15 : pas d'interaction; les boucles sont nombreuses et la plupart normales à la ligne de contact; le mycélium de *P. malençonii* est partout riche en boucles, mais subsistent deci - delà des boucles non fermées et des cloisons simples; le mycélium de *P. californica* possède lui aussi des boucles, parfois rares, parfois plus fréquentes. On les observe jusqu'au bord opposé à la ligne de contact. C'est la seule confrontation où *P. californica* se montre récepteur.

- *P. malençonii* A_2B_1 X *P. «californica»*, 12 : aucune boucle.

- *P. malençonii* A_2B_1 X *P. «californica»*, 13 : la ligne de contact qui montrait quelques anses à 3 semaines, ne possède plus que de rares crochets 4 semaines plus tard et seulement dans une des 2 confrontations. Mais si le territoire de *P. californica* reste sans boucles, le mycélium aérien élevé contre le verre à la limite extérieure du territoire du *P. malençonii* montre, dans 1 des 2 confrontations, quelques hyphes riches en boucles.

- *P. malençonii* A_2B_1 X *P. «californica»*, 15 : on observe de très rares boucles et seulement sur la ligne de contact; les subcultures de celle-ci montrent un mélange d'hyphes sans boucles et d'hyphes bouclées (vu par ex. 16 boucles de suite à partir du sommet en croissance).

Vu la difficulté de transcrire schématiquement ces résultats, nous avons voulu détailler les données de 1976. Une observation rapide aurait sans doute fait conclure à un résultat positif, tant en 1971 qu'en 1976, entre *P. malençonii* A_2B_2 et *P. californica*.15, mais partout ailleurs les résultats étaient soit négatifs, soit fort imparfaitement positifs. Le comportement des monocaryons n'a d'ailleurs pratiquement pas varié avec le temps. Il serait évidemment fort intéressant

Source : MNHN, Paris

de savoir si les appariements les plus riches en boucles sont capables de fructifier et de former des basidiospores viables. Toutefois, nous maîtrisons trop mal la fructification des *Peniophora* pour que leur absence puisse être considérée comme une incapacité à mener à bien caryogamie et méiose.

De tels résultats sont rares dans la littérature. On peut sans doute les comparer à ceux qu'ont observés NOBLES & FREW (1962) entre certains *Pycnoporus sanguineus* et *P. coccineus* ou BRUCHL et al. (1975) entre *Typhula idahoensis* et *T. ishikariensis*, espèces que les auteurs pensent cependant distinctes, ou plus encore avec les résultats de WERESUB & GIBSON (1960) entre le *Peniophora pini* subsp. *pini* européen et le *P. pini* subsp. *duplex* américain. Ces derniers distinguent comme on le voit deux sous-espèces.

Nos résultats peuvent être expliqués par l'existence de 2 sous-unités allopatrides, l'une méditerranéenne l'autre californienne encore partiellement compatibles.

L'étude comparée, très approfondie, de nouvelles récoltes américaines et méditerranéennes, est nécessaire avant de décider de l'éventuelle création d'un taxon californien infraspécifique. D'autre part on aimerait savoir si, entre Turquie maritime et Californie, *P. malençonii* est présent ou non sur le continent asiatique.

POSITION SYSTÉMATIQUE

Parmi les mycologues qui ont étudié, sous le nom d'*heterospora*, *P. malençonii* et le *P. californica* qui s'en rapproche, il y a deux tendances : celle défendue par D.A. REID (1969) qui en fait un *Lopharia*, reprise in litt. (fév. 1976) par KOTLABA et celle déjà exprimée par l'un de nous en 1969 et en 1974 qui mène à l'intégration dans les *Peniophora*. C'est à cette deuxième opinion que se rallie A.L. WELDEN lorsqu'il nous écrivait «Crosses between my *P. californica* and the species of *Peniophora* sensu stricto in your laboratory ought to prove interesting». La nette tendance dimitique montrée par *P. malençonii* et son aspect qui rappelle indiscutablement celui de *Lopharia spadicea* sont en faveur de la première opinion. Toutefois, le genre *Lopharia*, défini par deux caractères apparentés, la structure dimitique et les cystides incrustées, et de ce fait assez hétérogène, ne comporte cependant aucune espèce à spores roses et à sulfocystides. Par contre ces quatre caractères se trouvent réunis chez les *Peniophora* sg. *Duportella* où semble être la place naturelle de *P. malençonii*. J.C. LEGER, qui avait observé des anastomoses végétatives entre ce dernier et *P. quercina* (1968), a depuis lors confirmé cette parenté par étude comparée des profils protéiques et par immunoélectrophorèse (1974).

REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement M.M.G. MALENÇON, D.A. REID, H. JAHN, F. KOTLABA pour l'envoi de spécimens et A.L. WELDEN pour son amicale collaboration et l'envoi de monocaryons. Notre gratitude s'adresse en outre à Mr. le Directeur du Farlow Herbarium.

Source : MNHN, Paris

BIBLIOGRAPHIE

BOIDIN J., 1969 — A propos du genre *Lopharia* Kalchbr. et Mc Ow. em. Boidin 1959. *Rev. Myc.* 34 : 187-191.

BOIDIN J. & LANQUETIN P., 1974 — *Peniophora* (subg. *Duportella*) *Kuehneri* et *halimi novae* sp.; réflexions sur les genres *Peniophora* et *Duportella*, in Trav. mycol. dédiés à R. Kühner, *Bull. Soc. Linn. Lyon* (numéro spécial) : 47-60.

BRUEHL G. W., MACHTMES R. & KIYOMOTO R., 1975 — Taxonomic relationships among *Typhula* species as revealed by mating experiments. *Phytopath.* 65 : 1108-1114.

BURT E. A., 1920 — The *Thelephoraceae* of North America XII. *Stereum. Ann. Missouri Bot. Gard.* 7 : 81-238, pl. 2-6.

JAHN H., 1971 — Stereoide Pilze in Europa, Westfäl, *Pilzbr.* 8 : 69-176.

LEGER J. C., 1968 — Utilisation des anastomoses végétatives dans la reconnaissance des affinités interspécifiques : étude du genre *Peniophora* Cke sensu stricto (Basidiomycètes). *Bull. Soc. Bot. France* 84 : 505-511.

LEGER J. C., 1974 — Recherches expérimentales des affinités interspécifiques par les méthodes électrophorétiques et immunologiques chez les Basidiomycètes : Étude spéciale, du genre *Peniophora* Cke. Thèse Doct. État, Lyon.

NOBLES M. K. & FREW B. P., 1962 — Studies in wood-inhabiting Hymenomycetes. V. The genus *Pycnoporus* Karst. *Can. J. Bot.* 40 : 987-1016.

REID D. A., 1969 — Spring Fungi in Corsica. *Rev. Mycol.* 33 : 232-267.

WELDEN A. L., 1975 — *Lopharia. Mycologia* 67 : 530-551.

WERESUB L. K. & GIBSON S., 1960 — «*Stereum pini*» in North America. *Can. J. Bot.* 38 : 833-867.

Source : MNHN, Paris

DIE SYSTEMATISCHE STELLUNG DES «SCHNEESCHIMMELS»

von Emil MUELLER *

RÉSUMÉ. – Le stade parfait de «la moisissure des neiges» des céréales et d'autres graminées, décrit originalement sous le nom *Calonectria nivalis* Schaffnit, a été transféré dans les genres *Griphosphaeria* v. Höhn (Müller et v. Arx 1955) et *Micronectriella* v. Höhn (Booth 1971). Malheureusement ces deux genres sont des synonymes de *Discostroma* Clements et de *Sphaerulina* Sacc. respectivement, c'est pourquoi le genre *Monographella* Petr. doit remplacer ces noms génériques rejetés.

ZUSAMMENFASSUNG. – Der auf Gramineen, besonders auf Getreidearten manchmal erhebliche Schäden verursachende Schneeschimmel (moisissure des neiges des céréales, snow mould of cereals) ist schon lange bekannt. Bereits FRIES (1825) hat ihn beobachtet und *Lanosa nivalis* genannt. UNGER (1844) erkannte seine Bedeutung als Krankenheitserreger, und seit mehr als 100 Jahren trägt die in der parasitischen Phase des Pilzes auftretende asexuelle Fruktifikationsform den Namen *Fusarium nivale* (Fr.) Ces.

Die Einordnung der viel später gefundenen Ascomyceten-Hauptfruchtform hat demgegenüber grössere Schwierigkeiten verursacht. Sie wurde zuerst mit *Nectria graminicola* Berk. et Br. identifiziert (IHSSEN 1910) und später als eigene Art unter dem Namen *Calonectria nivalis* Schaffnit (1913) beschrieben.

MUELLER und v. ARX (1955) verglichen den Pilz bei ihren Untersuchungen mit *Griphosphaerella stevensonii* Petr. und erkannten die nahe Verwandtschaft der beiden Pilze untereinander und mit *Griphosphaeria corticola* (Fuck.) v. Höhn. Diese Pilze haben zartwandige Asci mit amyloidem Apikalapparat, der allerdings im Falle des Schneeschimmels sehr klein und zart ist und deshalb leicht übersehen wird. Nach MUELLER und v. ARX (1973) gehören solche Pilze zu den Amphisphaeriaceae, die Hauptfruchtform des Schneeschimmels weicht demnach von den übrigen Fusarien-Hauptfruchtformen, *Nectria* Fr., *Calonectria* de Not. *Gibberella* Sacc. (Hypocreaceae) ab. So brachten MUELLER und v. ARX (1955) sowohl *Calonectria nivalis* wie *Griphosphaerella stevensonii* als eigene Arten zu *Griphosphaeria* v. Höhn. BOOTH (1964, 1971) dagegen sah in *Micronectriella* v. Höhn. eine bessere Gattung für diese Pilze und reihte den Schneeschimmel als *Micronectriella nivalis* (Schaffnit) Booth ein.

* Institut für Spezielle Botanik, Universitätstrasse 2, CH 8006 Zürich.

Source : MNHN, Paris

Leider sind in der Zwischenzeit sowohl *Griphosphaeria* v. Höhn. wie *Micronectriella* v. Höhn. mit anderen Gattungen vereinigt worden, womit sich die Gattungszugehörigkeit von *Calonectria nivalis* erneut stellt. *Griphosphaeria corticola* (Fr.) v. Höhn. als Typus von *Griphosphaeria* wurde von SHOEMAKER and MUELLER (1964) als Synonym zu *Clathridium* Berl. non Sacc. gebracht; seither hat sich erwiesen, dass der Gattungsname «*Clathridium*» aus nomenklatorischen Gründen durch *Discostroma* Clements ersetzt werden muss (MUELLER und v. ARX 1973, BROCKMANN 1975). *Calonectria nivalis* passt jedoch schlecht in diese Gattung, da deren Arten meist bedeutend grössere und dickwandigere Fruchtkörper und oft stromatische Strukturen besitzen und ausserdem durch ganz anders gebaute Nebenfruchtformen aus den melanconialen Gattungen *Seimatosporium* Corda und *Sporocadus* Corda abweichen.

Der Gattungsname *Micronectriella* erschien zuerst bei v. HOEHNEL (1906) in einer Revision der von FELTGEN in seinen Vorstudien zur Pilzflora von Luxemburg beschriebenen Pilzen. Der Autor verzichtete aber auf eine eigentliche Beschreibung der Gattung, verglich den zu diskutierenden Ascomyceten, *Calonectria belonospora* Schröter var. *unicaudata* Feltg., nur mit *Micronectria pterocarpi* Racib. und bemerkte dazu : «Vielleicht empfiehlt es sich, jene *Micronectria*-Arten, welche keulige Asci und zylindrische bis spindelförmige (nicht fadenförmige) Sporen besitzen, in eine eigene Gattung, für welche ich den Namen *Micronectriella* vorschlage, zu versetzen.»

Erst später kam v. HOEHNEL wieder auf *Micronectriella* zurück, indem er für die Gattung eine kurze Beschreibung verfasste und auch die Kombination *Micronectriella pterocarpi* (Racib.) v. Höhn. einführte. Die Gattungsbeschreibung ist kurz und lautet : «Die Gattung *Micronectriella* v. Höhn. kann als eingewachsene *Calonectria* angesehen werden.» (v. HOEHNEL 1918).

Im zusammenhang mit der Arbeit über die Gattungen der Bitunicatae (v. ARX und MUELLER 1975) haben wir den in unserem Herbar (ZT) aufbewahrten Teil des Typusmaterials von *Micronectria pterocarpi* Rac. untersucht und darauf auch einen in allen Merkmalen der Beschreibung von RACIBORSKI (1900) entsprechenden Ascomyceten gefunden. Im Gegensatz zu der Feststellung von BOOTH (1964), an einem im Farlow Herbarium aufbewahrten Teil des Typusmaterials, sind bei unserer Probe die Asci bitunicat, was auch besser zu der in der Originalbeschreibung erwähnten, ausgesprochen kurzen und breiten Form der Asci passt. Der Bemerkung von RACIBORSKI (1900) : «Ich habe diese Art, welche mit *Sphaerulina* Sacc. verwandt zu sein scheint, doch keine dunkel gefärbten Hyphen bildet, zu der Gattung der Hypocreaceen *Micronectria* Speg. gerechnet», kommt deshalb ein grösseres Gewicht zu, als bisher angenommen wurde.

Tatsächlich ist der von uns untersuchte Ascomycet nichts anderes als eine *Sphaerulina* mit hellbraunen Ascomata; *Micronectriella* v. Höhn. fällt demnach mit *Sphaerulina* Sacc.(Mycosphaerellaceae, v. Arx und Müller 1975) zusammen :

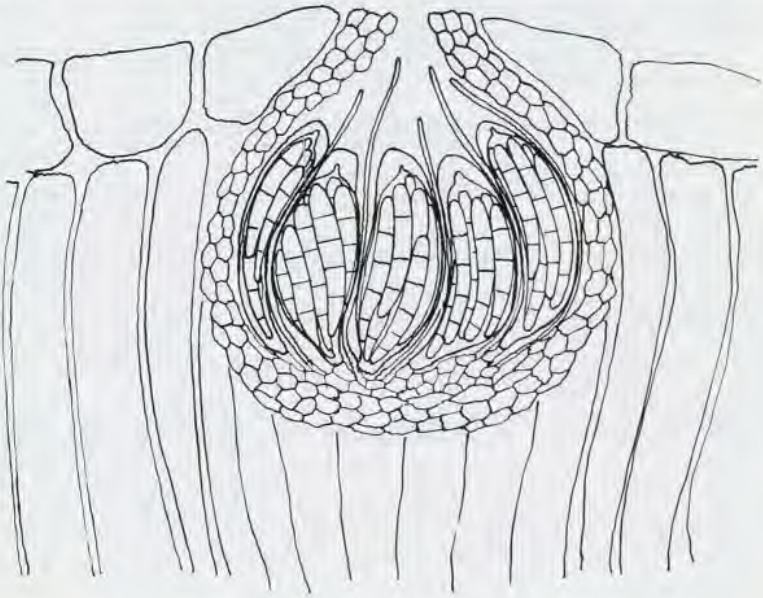
Abb. 1. – *Sphaerulina pterocarpi* (Rac.) v. Arx et Müller. Schnitt durch ein Ascocarp mit Asci und Ascosporen. 500 x.

Source : MNHN, Paris

SPHAERULINA PTEROCARPI (Rac.) v. Arx et Müller. *Studies in Mycology* 9 : 92 (1975)
Synonyme : *Micronectria pterocarpi* Rac. Parasitische Algen und Pilze Java's, III : 21 (1900).
Micronectriella pterocarpi (Rac.) v. Höhn. *Annal. Mycol.* 16 :60 (1918)
Matrix : Blätter von *Pterocarpus indicus* Willd. (Leguminosae)
Geographische Verbreitung : Indonesien (bis jetzt nur Java, Buitenzorg).

Die in mehr oder weniger dichten Herden rundlichen, nekrotischen und weiss verfärbten Blattflecken eingewachsenen Fruchtkörper sind kugelig, 100 μ gross und hellbraun gefärbt. Ihre Wand ist ca. 10 μ dick und aus kleinen, rundlichen, ziemlich dünnwandigen Zellen aufgebaut; am flachen Scheitel besitzen sie einen rundlichen Mündungsporus. Die büschelig der Fruchtkörperbasis entspringenden Asci sind breit zylindrisch, fast ellipsoidisch oder manchmal etwas keulig und zeichnen sich durch eine ausgeprägte Scheitelpartie aus; sie sind eindeutig bitunicat, 60 - 75 x 15 - 20 μ gross und von fädigen, in ganz reifen Fruktifikationen verschleimenden Paraphysoiden umgeben. Die je acht Ascosporen liegen etwas schräg zur Ascuslängsachse; sie sind zylindrisch bis keulig, fünf- bis siebenzellig, hyalin und messen 28 - 33 x 4,5 - 5,5 μ.

Da nunmehr weder *Griphosphaeria* noch *Micronectriella* passende Gattungsnamen für den Schneeschimmel sind, muss ein neuer Name gefunden werden. Ein solcher Name würde in der oben erwähnten *Griphosphaerella* Petr. zur Verfügung stehen (PETRAK 1927), doch gibt es noch einen älteren, dem die Priorität zukommt. Vor einigen Jahren hatte ich Gelegenheit, die im Reichsherbar in Stockholm aufbewahrte *Sphaerulina divergens* Rehm, die Typusart der Gattung *Monographella* Petr. (PETRAK 1924) zu untersuchen. Was sich schon nach der aus-



Source : MNHN, Paris

führlichen Beschreibung des Pilzes bei PETRAK (1924) vermuten liess, konnte beim Vergleich mit *Calonectria nivalis* bestätigt werden : die beiden Pilze stimmen weitgehend überein. Vor allem besitzt auch *Sphaerulina divergens*, im Gegensatz zur Angabe von PETRAK (1924) Asci mit amyloidem Apikalapparat.

Sowohl *Calonectria nivalis* wie *Sphaerulina divergens* sind im selben Jahr beschrieben worden, eindeutig hat aber das Epitethon «*nivalis*» Priorität über «*divergens*», weil das Heft 5 des *Mykologischen Zentralblattes* 2 (mit der Beschreibung von *Calonectria nivalis*) am 17. April 1913, das *Sphaerulina divergens* enthaltende Heft 5 der *Annales Mycologici* 11 erst am 10. November 1913 herausgegeben wurde.

Monographella Petrak. *Annls. Mycol.* 22 : 143 (1924)

Typus : *Monographella nivalis* (Schaffnit) E. Müller
Synonym : *Griphosphaerella* Petr. *Annls. Mycol.* 25 : 209 (1927).

Die einzeln oder in kleinen Gruppen dem abgestorbenen Gewebe des Wirtes subepidermal eingewachsenen Perithecien sind klein, rundlich, birnförmig oder oval, entwickeln sich oft in kleineren oder grösseren Gruppen und brechen mit einer mehr oder weniger deutlichen Mündung nach aussen. Sie sind von einer dünnen, hell gefärbten Wand aus plattenförmigen Zellen umgeben. Der Mündungskanal ist dicht mit fädigen Periphysen versehen. Die keulig-zylindrischen, zartwandigen Asci besitzen im Scheitel einen Apikalapparat mit einer dünnen, amyloiden Ringstruktur. Die Ascosporen sind spindelig, zwei- bis mehrzellig, hyalin und nur im Alter zuweilen leicht gelblich oder bräunlich. Die zahlreichen fädigen Paraphysen sind in ausgereiften Fruktifikationen oft verschleimt.

MONOGRAPHELLA NIVALIS (Rehm) Müller comb. nov.

Synonyme : *Calonectria nivalis* Schaffnit. *Mycol. Zentralbl.* 2 : 257 (1913)
Griphosphaeria nivalis (Schaffnit) Müller et v. Arx. *Phytopath. Z.* 24 : 356 (1955)
Micronectriella nivalis (Schaffnit) Booth. The genus *Fusarium* p. 42 (1971)
Nectriella graminicola Niessl non Berk. et Br. *Rabenh. Fungi europ. 1659 (1873)*
Calonectria graminicola Wollenw. non Berk. et Br. *Phytopathology* 3 : 231 (1913)
Sphaerulina divergens Rehm. *Annls. Mycol.* 11 : 397 (1913)
Monographella divergens (Rehm) Petr. *Annls. Mycol.* 22 : 143 (1924)

Nebenfruchtform : *Fusarium nivale* (Fr.) Ces. ap. Rabenhorst, Herb. Myc. ed. I. Nr. 1439 (1850 als Synonym von *Fusarium oxysporum* Schlecht.)

Matrix : zahlreiche Gramineae, z. B. *Triticum, Secale, Hordeum, Poa, Elymus*.

Geographische Verbreitung : Europa, Asien, Nordamerika, südliches Südamerika, Australien, Neuseeland.

Source : MNHN, Paris

Abbildungen : (Schaffnit 1913; Wollenweber und Reinking 1935; Müller 1952; Booth 1971).

Die kugeligen, ellipsoidischen oder birnenförmigen Perithecien sind dem Substrat subepidermal eingewachsen; sie stehen einzeln, in kleinen Gruppen oder in Längsreihen, haben einen Durchmesser von 150 - 260 μ und sind bis 300 μ hoch. Die Farbe schwankt von gelb bis dunkelbraun, und die Fruchtkörperwand ist relativ dünn, je nach Grösse der Fruchtkörper 10 - 30 μ dick und aus plattenförmigen, relativ dünnwandigen Zellen aufgebaut. Die mehr oder weniger deutlich vorstehende Mündung ist von einem innen mit zahlreichen Periphysen besetzten Kanal durchbohrt; sie bricht nach aussen durch. Die zylindrischen, parallel nebeneinander stehenden Asci besitzen eine zarte Wand und schliessen im schwach verdickten Scheitel einen Apikalapparat mit einem feinen Amyloidring ein. Sie messen 50 - 70 x 7 - 9 μ. Die acht Ascosporen sind breit spindelig, mit zarten Quersepten zwei- bis vierzellig und hyalin, in Masse allerdings leicht rötlich. Die fädigen Paraphysen beginnen bei der Reife der Fruchtkörper zu verschleimen.

LITERATUR

VON ARX J. A. und MUELLER E., 1955 – Einige Beiträge zur Systematik und Synonymie der Pilze. *Phytopath. Z.* 24 : 353-372.

VON ARX J. A. und MUELLER E., 1975 – A re-evaluation of the bitunicate Ascomycetes with keys to families and genera. *Studies in Mycology* 9 : 1-159.

BOOTH C., 1964 – Studies of Pyrenomycetes VII. CMI *Mycol. Papers* 94 : 1-16.

BOOTH C., 1971 – The genus *Fusarium*. Commonw. Mycol. Inst. Kew, 237 p.

BROCKMANN J., 1975 – Untersuchungen über die Gattung *Discostroma* Clements. Diss. ETH (Zürich) Nr. 5553, 96 p.

FRIES E, 1825 – Systema orbis vegetabilis, Lund, 374 p.

VON HOEHNEL F., 1906 – Revision von 292 der von J. Feltgen aufgestellten Ascomycetenformen auf Grund der Originalexemplare. Sitzber. K. K. Akad. Wiss. Wien, *Math.-Naturw.* Kl. 1. Abt. 115 : 1189-1327.

VON HOEHNEL F., 1918 – Mykologische Fragmente 191-290. *Annls. Mycol.* 16 : 35-174.

IHSSEN G., 1910 – *Fusarium nivale* Sorauer, der Erreger der Schneeschimmelkrankheit und sein Zusammenhang mit *Nectria graminicola* Berk. et Br. *Cbl. Bakt. u. Parasitenkunde*, 2. Abt. 27 : 48-60.

MUELLER E., 1952 – Pilzliche Erreger der Getreideblattdürre. *Phytopath. Z.* 19 : 403-416.

MUELLER E. und VON ARX J. A., 1973 – Pyrenomycetes : Meliolales, Coronophorales, Sphaeriales. ap. AINSWORTH (G. C.), SPARROW (F. K.), SUSSMAN (A. S.). The fungi IV A : 87-132.

PETRAK F., 1924 – Mykologische Notizen VII. *Annls. Mycol.* 22 : 1-182.

PETRAK F., 1927 – Mykologische Notizen IX. l. c. 25 : 193-343.

RACIBORSKI M., 1900 – Parasitische Algen und Pilze Java's III. *Bot. Inst. Buitenzorg* : 1-49.

Source : MNHN, Paris

REHM H., 1913 – Ascomyceti novi. *Annls Mycol.* 11 : 396-401.

SCHAFFNIT E., 1913 – Zur Systematik von *Fusarium nivale* bezw. seiner höheren Fruchtform. *Mycol. Zentralblatt* 2 : 253-357.

SHOEMAKER R. A. and MUELLER E., 1964 – Generic correlations and concepts : *Clathridium* (= *Griphosphaeria*) and *Seimatosporium* (= *Sporocadus*). *Canad. J. Bot.* 42 : 403-410.

UNGER F., 1844 – Ueber *Lanosa nivalis* Fr. *Bot. Z.* 2 : 569-575.

WOLLENWEBER H. W. und REINKING O. H., 1935 – Die Fusarien. Parey, Berlin, 355p.

Commission paritaire n° 58611 22 novembre 1976

Dépôt légal : n° 619 - Avril 1977 - Imp. Vial, 91410 Dourdan

Source : MNHN, Paris